
Aus der Klinik für Neurologie mit Poliklinik
am Medizinischen Zentrum für Nervenheilkunde
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg - Klinik für Neurologie
Direktor: Univ.- Professor Dr. med. Dr. h.c. Wolfgang Hermann Oertel
Arbeitsgruppe Klinische Neuroimmunologie
Leiter: PD Dr. med. Björn Tackenberg

**Prospektive, randomisierte, doppelblinde, Plazebo-
kontrollierte Studie über Veränderungen des Acetylcholin Re-
zeptor Antikörper Titers bei der autoimmunen Myasthenia
gravis nach einer Inflenza Schutzimpfung (ProPATlent)**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin
dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Maximilian David Schneider

aus Frankfurt am Main



Marburg an der Lahn 2014

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am:
04.06.2014

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Herr Prof. Dr. H. Schäfer

Referent: Herr PD Dr. B. Tackenberg

1. Korreferent: Herr PD Dr. T. Stief

Meinen Eltern und Großeltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	4
1. Zusammenfassung	8
1. Summary.....	10
2. Einleitung.....	12
2.1 Myasthenia gravis	12
2.1.1 Epidemiologie	12
2.1.2 Pathogenese der MG	12
2.1.3 Klinische Symptomatik und Verlauf.....	20
2.1.4 Diagnostik	21
2.1.5 Therapie.....	21
2.2 Influenza und Impfung.....	24
2.2.1 Influenza-Erkrankung.....	24
2.2.2 Influenza-Impfung.....	29
2.3 Ableitung der Fragestellung, Studiengründe und Ziele	34
3. Patienten, Material und Methoden.....	36
3.1 Studiendesign.....	36
3.1.1 Endpunkte.....	36
3.1.2 Randomisierung und Verblindung	36
3.2 Studienmedikation	39
3.2.1 Influenza-Impfstoff	39
3.2.2 Plazebo	41
3.3 Studienpopulation	42
3.3.1 Einschlusskriterien	42
3.3.2 Ausschlusskriterien	42

3.4	Studienablauf	43
3.4.1	Screening / Visit 1	44
3.4.2	Telefonvisits (Visit 2 und 4).....	45
3.4.3	Visits im Prüfzentrum (Visit 3 und 5).....	45
3.4.4	Telefonische Befragung nach Studienende	46
3.5	Methoden bei den Studienvsits	46
3.5.1	Unerwünschte Ereignisse (Adverse Events, AE).....	46
3.5.2	Acetylcholinrezeptor-Antikörper-Testung	47
3.5.3	Influenza-Antikörper-Testung.....	47
3.5.4	Modifizierter Myasthenie-Score nach Besinger und Toyka (mBS)/ modifizierte QMGS-Skala.....	48
3.5.5	Einteilung der Myasthenia gravis.....	49
3.5.6	Medikamentenänderung	51
3.6	Statistische Methoden	51
3.6.1	Studienpopulationen.....	51
3.6.2	Endpunkte.....	52
3.6.3	Hypothesen.....	52
3.6.4	Fallzahlplanung	53
3.6.5	Statistik für sekundäre Endpunkte.....	54
3.6.6	Datenmanagement.....	55
3.6.7	Datenschutz	56
3.7	Ethische und rechtliche Grundlagen	56
3.7.1	Ethische Grundlagen	56
3.7.2	Patienteninformation und Einverständniserklärung.....	57
3.7.3	Patientenversicherung	57
4.	Ergebnisse.....	59

4.1	Fallzahlumplanung und Zwischenauswertung.....	59
4.2	Studienpopulation	60
4.3	Acetylcholinrezeptor-Antikörper-Titer	64
4.4	Influenza-Antikörper-Titer	67
4.5	Modifizierter Myasthenie-Score nach Besinger und Toyka	71
4.6	Medikamentenänderung.....	72
4.7	Unerwünschte Ereignisse, Medikamentensicherheit	74
4.8	Ergebnisse der telefonischen Befragung nach Studienende	76
5.	Diskussion	77
5.1	Diskussion der Methodik	77
5.1.1	Studiendesign und Ablauf	77
5.1.2	Rekrutierung und Fallzahl	78
5.1.3	Kritische Betrachtung der gewählten Endpunkte.....	79
5.2	Diskussion der Ergebnisse	81
5.2.1	Repräsentativität der Studienpopulation	81
5.2.2	Diskussion der AChR-Ak-Änderung und klinischer Sicherheit	81
5.2.3	Diskussion der Impfantwort	86
5.3	Ausblick	93
	Literaturverzeichnis	96
	Abkürzungsverzeichnis.....	120
	Anhang.....	123
	A) Telefaxe zur Randomisierung	123
	B) Notfallumschlag	125
	C) Anamnesebogen	127
	D) Experteneinschätzung des klinisch relevanten Unterschiedes eines AChR-Ak-Titeranstieges	130

E) Electronic Case Report Form (eCRF)	131
F) Patienteninformation und Einverständniserklärung	141
G) Versicherungspolice	151
Verzeichnis meiner akademischen Lehrer	156
Danksagung	157

1. Zusammenfassung

Die autoimmune Myasthenia gravis (MG) ist eine T-Helferzell-abhängige Autoimmunerkrankung, bei der Autoantikörper gegen den Acetylcholinrezeptor (anti-AChR-Ak) zu belastungsabhängigen Lähmungen der Willkürmuskulatur mit Erholung in Ruhe führen. Veränderungen in der Höhe des anti-AChR-Ak Titers korrelieren intraindividuell mit dem Schweregrad der MG. Die MG kann in den meisten Fällen mittels immunsuppressiver und symptomatischer Therapie gut kontrolliert werden.

Die Ständige Impfkommission (STIKO) empfiehlt u. a. für chronisch Kranke und Menschen über 60 Jahren eine saisonale Impfung gegen Influenza. 2010 wurden die Empfehlungen erweitert auf Patienten mit neurologischer Grunderkrankung. Es gibt bisher keine prospektiven Studien, die sich mit der MG und einer Impfung auseinandergesetzt haben. Ob es bei immunsupprimierten MG-Patienten überhaupt zu einem Impferfolg kommt oder ob eine Influenza-Schutzimpfung durch "Bypassboosterung" zu einer Erhöhung des anti-AChR-Ak Titers führt, wurde bisher ebenfalls nicht untersucht.

Insgesamt wurden 62 anti-AChR-Ak positive MG-Patienten hinsichtlich des Stratus "Immunsuppression ja/nein" balanciert randomisiert und erhielten entweder einen zugelassenen Influenza-Impfstoff (Mutagrip[®]) gegen die saisonale Influenza oder ein Placebo (0,9%ige NaCl-Lösung) intramuskulär appliziert. Klinische und serologische Untersuchungen erfolgten jeweils zur Baseline, nach 3 und 12 Wochen (V1, V3, V5). Primärer Endpunkt war die relative Veränderung des anti-AChR-Ak Titers in % zum Ausgangswert bei Baseline. Sekundäre Endpunkte waren: klinische Veränderungen im modifizierten Besinger-Score (mBS), Titeranstieg von anti-Influenza -A und -B der Immunoglobulinklassen G und A nach 3 Wochen sowie Veränderungen der Begleitmedikation (BM; Immunsuppressiva und Cholinesterasehemmer).

Im Vergleich zwischen Verum- und Placebogruppe zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der relativen AChR-Ak-Titeränderung. Die Titerwerte fielen im Mittel um 6,0 bzw. 2,8% gegenüber dem Ausgangswert ab (Verum- bzw. Placebogruppe). Auch klinisch ließ sich zwischen den Therapiegruppen mittels mBS kein Unterschied feststellen. Unerwünschte Ereignisse traten in der Impfgruppe nicht häufiger auf. Ein Serious Adverse Event wurde als nicht im Zusammenhang mit der Impfung stehend bewertet.

Innerhalb der Impfgruppe zeigte sich nur in zwei der vier getesteten Immunglobulin-klassen ein signifikanter Anstieg der anti-Influenza-Titer gegenüber den Ausgangswerten. Nur ein Patient erreichte eine Serokonversion (mindestens vierfacher Titeranstieg). Damit konnte gezeigt werden, dass die Influenza-Impfung bei MG-Patienten sicher ist. Wegen der unvollständigen Impfreaktion müssen in Zukunft Veränderungen der Impfstrategie (z. B. zweimaliges Impfen) diskutiert werden und in weiteren Untersuchungen gezielt die humorale Impfantwort untersucht werden.

1. Summary

Autoimmune myasthenia gravis is a T helper cell (Th)-dependent autoimmune disease. Autoantibodies directed against the acetylcholine receptor (anti-AChR-Ab) cause muscle weakness with improvement of symptoms with regeneration. Changes in anti-AChR-Ab titers correlate intra-individually with the severity of symptoms. In most cases immunosuppressive treatment and anticholinesterase drugs can control this medical condition well.

The Standing Committee on Vaccination at the Robert Koch Institute (STIKO) recommends seasonal influenza vaccination for people with chronic diseases or over the age of 60. Especially neurologic disorders are included since an update of the recommendations in 2010. Prospective studies about influenza vaccination in MG are lacking. Additionally there is neither evidence about the concern of boosting of anti-AChR-Abs by influenza vaccination nor reduced vaccine protection due to immunosuppressive treatment.

In our study 62 anti-AChR-Ab-positive patients were randomized to get intramuscular injection of seasonal influenza vaccination (Mutagrip[®]) or placebo (0.9% NaCl-Solution). Immunosuppressive treatment “yes or no” was considered by balanced randomization. Clinical and serologic parameters were determined at baseline and 3 and 12 weeks afterwards (V1, V3, V5). Primary endpoint was the relative change of anti-AChR-Ab-titer at week 12 compared to baseline values. Secondary endpoints were: clinical change assessed by a modified MG-score (mBS), increase of anti-influenza-ELISA-antibodies (Influenza A/B IgA and IgG) three weeks after immunization and changes of immunosuppressive or anticholinesterase treatment.

There were no significant differences in AChR-Ab-titer change between the two groups. A decrease of median titers was found in both groups (6,0 % in vaccine group, 2.8 % in placebo group). Changes in mBS between the groups showed no significant differences either. Adverse events did not happen more often in the vaccine group. One serious adverse event occurred which was not related to vaccination.

We found significant influenza-ab increase only for Influenza A IgA and Influenza B IgG in the vaccine group. Only one patient achieved a fourfold ab-increase (seroconversion).

Our study demonstrates that seasonal influenza vaccination in MG-patients is safe. Because of the low influenza antibody response further investigation concerning vaccine effectiveness and efficacy and changes in vaccine strategy is needed.

2. Einleitung

2.1 Myasthenia gravis

Die autoimmune, nicht-kongenitale Myasthenia gravis (MG) ist eine Autoimmunerkrankung, bei der es zur Bildung von Autoantikörpern gegen den postsynaptischen nikotinergen Acetylcholinrezeptor (nAChR) an der motorischen Endplatte der Skelettmuskulatur kommt.

2.1.1 Epidemiologie

Die Prävalenz der MG ist in den letzten Jahren kontinuierlich gestiegen. Dies wird zum einen mit der allgemeinen Alterung der Gesellschaft, aber auch mit besseren diagnostischen und therapeutischen Mitteln und damit längeren Überlebenszeiten der Patienten erklärt (Juel und Massey, 2007). Die Prävalenz der MG liegt zwischen 7 und 15 Erkrankten auf 100.000 Einwohner (Robertson et al., 1998; Somnier et al., 1991). Die Anzahl Neuerkrankter schwankt relativ deutlich in einzelnen Studien: So reichen die Inzidenzraten von 0,2 bis 2,1 Neuerkrankte pro 100.000 Einwohner innerhalb eines Jahres (Aragonès et al., 2003; Phillips und Torner, 1996).

Es gibt zwei Gipfel in der Altersverteilung bei Erstauftreten der Symptomatik: In der Altersgruppe unter 40 Jahren erkranken Frauen mehr als doppelt so häufig wie Männer (sogenannte „early onset MG“ = EOMG), wohingegen das Verhältnis in der Altersgruppe über 50 Jahren bei Erkrankungsbeginn 3:2 zugunsten des männlichen Geschlechts verteilt ist („late onset MG“, LOMG) (Grob et al., 2008). Vermutlich ist die MG besonders bei Patienten über 75 Jahren unterdiagnostiziert (Vincent et al., 2003b).

Etwa 10% bis 14% der Betroffenen in Europa sind Kinder unter 10 Jahren (juvenile MG) (Andrews et al., 1994).

2.1.2 Pathogenese der MG

2.1.2.1 *Heterogenität der MG*

Durch Unterschiede in der klinischen Symptomatik, dem Manifestationsalter, Geschlechterverteilung, Thymusveränderungen und immunologischen Assoziationen wird

bereits längere Zeit von der MG als eine heterogene Erkrankung mit im Detail unterschiedlichen Pathogenesen ausgegangen. Es lassen sich sechs Subgruppen der MG unterscheiden. Einen Überblick hierzu gibt Tabelle 1.

Bei der early-onset MG (EOMG) sind bevorzugt Frauen betroffen, die bei Erkrankungsbeginn jünger als 45 Jahre alt sind und in der Regel eine Hyperplasie des Thymus im Sinne einer Thymitis mit einer Vielzahl an Germinalzentren im Thymusmark und lymphozytären Infiltrationen aufweisen. Diese Zentren sind für die Expansion und Ausreifung spezifischer B-Zell-Klone verantwortlich (Alpert et al., 1971). Neben der Assoziation mit HLA-Antigenen ist auch das Vorkommen weiterer Autoimmunerkrankungen ausgeprägter als in anderen Subgruppen (Tola et al., 1994).

Die Prävalenz der Patienten, die an der Spätform der MG, der late-onset MG (LOMG), erkranken, nimmt durch die Zunahme älterer Menschen in der Bevölkerung kontinuierlich zu. Häufig zeigen die Betroffenen, die in der Mehrzahl männlich sind, einen hypoplastischen, involutierten Thymus (Scadding et al., 1981).

Die rein okuläre Verlaufsform (OMG) findet sich bei etwa 15% der Myasthenie-Patienten. Hier liegt keine besondere Geschlechterverteilung oder MHC-Assoziation vor. Einzig auffällig erscheint, dass die AChR-Ak nur bei etwa 50 bis 70 % der Betroffenen nachweisbar sind (Sommer et al., 1997; Tackenberg et al., 2001).

Einen ebenso großen Anteil nehmen die Thymom-assoziierten Erkrankungen (TAMG) ein. In mehr als 75% der Fälle handelt es sich um einen malignen Thymustumor (Chen et al., 2002).

In 10 bis 15% der Fälle lassen sich die typischen AChR-Ak nicht nachweisen. In einem Teil dieser Fälle zeigte sich aber, dass Antikörper gegen die muskelspezifische Tyrosinkinase MuSK, ein postsynaptisches transmembranes Protein an der neuromuskulären Endplatte, detektiert werden können (MAMG) (Hoch et al., 2001). Die Prävalenz der MuSK-Ak bei AChR-Ak-negativen MG-Patienten schwankt teilweise deutlich zwischen einzelnen Populationen (2-71%) (Hoch et al., 2001; Zhang et al., 2007; Zhou et al., 2004).

	EOMG	LOMG	TAMG	OMG	SNMG	MAMG
Häufigkeit	20%	45%	10%	15%	4%	6%
Verlauf	Generalisiert; Krankheitsmaximum in den ersten drei Jahren	generalisiert; Krankheitsmaximum in den ersten drei Jahren	Generalisiert; seltener komplette Remission zu erzielen	okulär	generalisiert	Generalisiert, fazio-pharyngealer Schwerpunkt
Manifestationsalter	< 45 Jahre	> 45 Jahre	jedes Alter; zumeist 40-60	jedes Alter	jedes Alter	jedes Lebensalter; eher jüngere Patienten
Geschlechterverteilung m:w	1:3	1,5:1 ?	1:1	1:2	n.a.	1:3
Thymushistologie	Lymphofollikuläre Hyperplasie	Atrophie, Involution	epithelialer, z.T. maligner Tumor	n.a.	Verdickte T-Zonen	Normal; allenfalls sehr wenige und kleine Keimzentren
HLA-Assoziation	B8, DR3, A1 (stark); DR16, DR9 (weniger stark)	B7, DR2 (weniger stark)	DR7 (stark); A25 (weniger stark)	n.a.	n.a.	DR14 (stark)
assoziierte Auto-Antikörper	Anti-AChR-Ak	Anti-AChR-Ak, Anti-Titin-Ak, anti-Ryanodin-Rezeptor-Ak	Anti-AChR-Ak, anti-Titin-Ak, anti-Ryanodin-Rezeptor-Ak, anti-TRPC3-Ak, anti-IL-12-Ak, anti-INF α -Ak, anti-INF γ -Ak	Anti-AChR-Ak (50-70%)	keine	Anti-MuSK-Ak
Ansprechen auf Immuntherapie	+++	+++	+(+)	+++	+(+)	+(+)

Tabelle 1: Subgruppen der autoimmunen MG modifiziert nach (Compston et al., 1980); (Newsom-Davis, 1988); (Vincent, 2002); (Vincent et al., 2003a); (Lauriola et al., 2005) (Saka et al., 2005) (Sommer et al., 2008) (Tackenberg, 2010). EOMG=early-onset MG, LOMG= late-onset MG, TAMG=Thymom-assoziierte MG, OMG= okuläre MG, SNMG= seronegative MG, MAMG=MuSK-assoziierte MG, MHC= Major Histocompatibility Complex. Weitere Erläuterungen siehe Text.

2.1.2.2 AChR-Antikörper

Die AChR-Ak stellen bei der Mehrzahl der MG-Patienten das pathophysiologische Endresultat dar (Vincent, 2002). Simpson veröffentlichte 1960 erstmals die Hypothese, dass es sich bei der MG um eine Autoimmunerkrankung handelt, wobei spezifische Autoantikörper gegen eine Zielstruktur der neuromuskulären Endplatte gerichtet sind. Neben dem bekannten klinischen Ansprechen auf Steroide und den Thymus- und Muskelpathologien stützte sich die Hypothese auf die Beobachtung myasthener Symptome bei Neugeborenen von Müttern mit MG in den ersten Lebenswochen (Simpson, 1960). Evidenz für die autoimmune Genese der MG konnte jedoch erst in den 1970er Jahren gefunden werden, als (1) Patrick und Lindstrom durch Gabe aufgereinigter Acetylcholinrezeptoren die „experimentelle autoimmune Myasthenia gravis“ (EAMG) bei Kaninchen auslösten (Patrick und Lindstrom, 1973). (2) Die spezifischen Autoantikörper konnten bei 85-90% der Patienten mit generalisierter MG nachgewiesen werden, hingegen nicht bei gesunden Kontrollpersonen (Lefvert et al., 1978; Lindstrom et al., 1976; Tindall, 1981). (3) Der passive Transfers der MG auf Versuchstiere durch Gabe von Patientenserum bewies schließlich die pathogenetische Bedeutung der AChR-Ak (Toyka et al., 1975). (4) Zudem zeigte sich nach der Entfernung der Antikörper durch Plasmapherese oder Lymphdrainage des Ductus thoracicus eine klinische Besserung (Pinching und Peters, 1976). Eine Rücktransfusion führte nur bei Gabe von Serum, nicht aber zellulärer Bestandteile, zur erneuten Verschlechterung der Symptomatik durch die im Serum zirkulierenden Antikörper (Bergström et al., 1975). (5) Der morphologische Beweis gelang durch die lichtmikroskopische Identifikation von IgG und Komplement an der neuromuskulären Membran (Engel et al., 1977).

AChR-Ak sind in der Regel vom Typ IgG, heterogen und polyklonal, das heißt, die Antikörper können unterschiedliche Epitope auf verschiedenen Regionen des AChRs erkennen. Zumeist liegt die Zielregion im Bereich der beiden α -Untereinheiten, die daher als „main immunogenic region“ bezeichnet werden (Tzartos und Lindstrom, 1980).

Die Höhe des AChR-Ak-Titers korreliert *interindividuell* nicht mit dem Schweregrad der Erkrankung (Besinger et al., 1983), allerdings kann eine *intraindividuelle* Veränderung des Titers eine Verbesserung oder eine Verschlechterung der Symptomatik beziehungsweise ein Ansprechen auf Immunsuppressiva oder Thymektomie anzeigen

(Tzartos et al., 1982). Bei klinisch stabilen Patienten bleiben auch die Antikörper-Titer auf einem gleichbleibenden Niveau (Lefvert et al., 1978). Die Variabilität der Titer bei klinisch stabilen Patienten wurde bisher nicht publiziert.

2.1.2.3 *Störung der Erregungsübertragung bei der MG*

Die neuromuskuläre Endplatte wird aus dem synaptischen Spalt, der präsynaptischen Membran des α -Motoneurons und der postsynaptischen Membran der Muskelfaser gebildet. Beim physiologischen Ablauf der Erregungsweitergabe kommt es, sobald ein Aktionspotential die Synapse erreicht, zur Öffnung spannungsabhängiger, präsynaptischer Calcium-Kanäle. Dies führt zur Exocytose des in Vesikeln verpackten Acetylcholins in den synaptischen Spalt. Die AChR, die in ihrer adulten Form aus fünf Untereinheiten bestehen ($2 \times \alpha_1$, β_1 , γ , δ -Untereinheit), sind an der Spitze der charakteristischen postsynaptischen Falten lokalisiert. Dort führt die Bindung von zwei Molekülen des ACh an den beiden α -Untereinheiten zur Öffnung des in den Rezeptor integrierten Natriumkanals. Dadurch wird ein Endplattenpotential generiert, das zur weiteren Öffnung spannungsabhängiger Natriumkanäle und damit zur Ausbreitung des Aktionspotentials in der Muskelfaser führt. Das ACh wird durch die Acetylcholinesterase im synaptischen Spalt hydrolysiert (Hohlfeld, 2006).

Je nach Erkrankungsschwere und -dauer findet sich bei der MG eine Reduktion der Zahl an AChR (Fambrough et al., 1973). Dadurch wird ein Endplattenpotential mit geringerer Amplitude generiert, so dass es zum Ausfall des Aktionspotentials an einigen Muskelfasern kommt. Klinisches Korrelat ist die typische belastungsabhängige Muskelschwäche mit Besserung in Ruhe (Stalberg et al., 1976).

Die Störung der Erregungsübertragung bei der MG durch die AChR-Ak erfolgt über drei Mechanismen (s. Abbildung 1): Zum einen spielt die direkte Blockade der Rezeptoren durch die Antikörper eine Rolle (A) (Howard et al., 1987). Zweitens sind die Antikörper in der Lage, zwei Rezeptoren miteinander quer zu vernetzen. Über Triggerung eines zellulären Signals kommt es zur Endozytose und Degradation der Rezeptoren (B) (Pumplin und Drachman, 1983). Zusätzlich binden und aktivieren die AChR-Ak Komplement und lösen hierdurch über den Membran-attackierenden-Komplex eine fokale Lyse der postsynaptischen Membran aus (C) (Engel und Arahata, 1987). Die beiden

letzten genannten Mechanismen werden vordergründig für die Destruktion und den Verlust der Fältelung der postsynaptischen Membran verantwortlich gemacht.

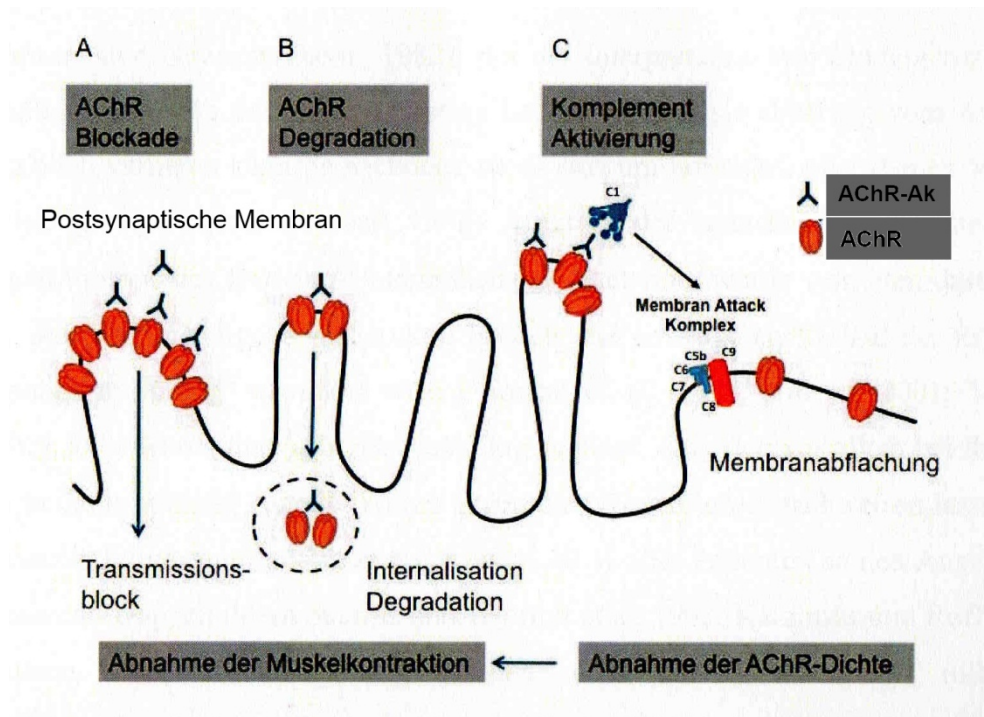


Abbildung 1: Neuromuskuläre Transmission bei der MG nach (Tackenberg, 2010). Details s. Text.

2.1.2.4 Zelluläre Immunantwort bei der MG

Auch wenn die MG einen Prototyp der Auto-Antikörper-assoziierten Autoimmunerkrankungen darstellt, fand sich bereits frühzeitig indirekte Evidenz für eine defekte Immunregulation im Bereich der TC (z.B. Thymusveränderungen, HLA-Assoziation).

Im Blut und im Thymusgewebe lassen sich bei MG-Patienten AChR-spezifische CD4⁺-T-Zellen nachweisen (Hohlfeld et al., 1984; Melms et al., 1988). Interessanterweise finden sich AChR-spezifische T-Zelllinien auch bei gesunden Patienten (Sommer et al., 1991), was die Bedeutung regulatorischer Immunmechanismen wie z.B. regulatorische T-Zellen (Balandina et al., 2005) bei der Autoimmunpathogenese verdeutlicht.

Es zeigte sich eine deutliche Heterogenität der AChR-spezifischen TC-Epitope. Ein dominantes TC-Epitop als Korrelat zur main immunogenic region als BC-Epitop ließ sich nicht nachweisen. Vermutlich entwickelt sich die Diversität der Epitope erst im Laufe der Erkrankung (Milani et al., 2003), was dem autoimmunologischen Konzept des „epitope spreading“ entspricht (Vincent, 2002). Der grundlegende Mechanismus der

Interaktion von B- und T-Zellen ist weiterhin unklar. Zytokine wie bspw. Interferon- γ oder BAFF (B-cell-activating-factor) (Thangarajh et al., 2006) sind in der B-/T-Zell-Kooperation bei der MG von Bedeutung.

Der Nachweis der AChR-spezifischen CD4⁺-Zellen im Thymus spricht für den Thymus als Ort der primären Autosensibilisierung und damit den Ausgangspunkt der Autoimmunreaktion (Hohlfeld und Wekerle, 2008). Neben den AChR-spezifischen T-Zellen (Sommer et al., 1990) finden sich mit spezifischen Plasmazellen (Hill et al., 2008) sowie Antigen-präsentierenden Zellen (Roxanis et al., 2002) im Thymus alle Faktoren zur Initiierung bzw. Aufrechterhaltung der Autosensibilisierung.

2.1.2.5 Die Rolle des Thymus bei MG

Die Hauptfunktion des Thymus ist die Proliferation und Selektion von T-Lymphozyten, die anschließend den Thymus verlassen und die sekundären lymphatischen Organe besiedeln. Undifferenzierte lymphatische Progenitorzellen entwickeln sich im Kortex des Thymus zu unreifen Thymozyten. Zunächst wird mit Hilfe somatischer Rekombination (auch V(D)J-Rekombination) für jeden Thymozyten ein spezifischer T-Zell-Rezeptor (TCR) exprimiert (Beta-Selektion) (Boehm, 2008). Kortikale Thymusepithelzellen präsentieren auf ihrer Oberfläche Moleküle des Haupthistokompatibilitätskomplexes (Major Histocompatibility Complex, MHC), die mit dem TCR interagieren. Bei adäquater Affinität zwischen TCR und MHC geht der Thymozyt nicht in Apoptose (positive Selektion) (Baldwin et al., 2004). Durch die Bindung mit MHC-Molekülen der Klasse I oder II reifen die T-Zellen als CD8 beziehungsweise CD4 positive Zellen aus. Im Thymusmark werden den T-Zellen körpereigene Peptidfragmente über MHC präsentiert. Bei einer starken Interaktion zwischen TCR und MHC-Komplex geht der Thymozyt entweder in Apoptose (Surh und Sprent, 1994) oder wird zu einer regulatorischen T-Zelle (T_{Reg}) umgewandelt (negative Selektion) (Baldwin et al., 2004). T_{Reg} unterdrücken die Aktivierung des Immunsystems und können dadurch vor Autoimmunität schützen (Thompson und Powrie, 2004).

Die Subgruppen der MG unterscheiden sich in ihren Thymuspathologien: So findet sich bei der EOMG häufig eine Thymushyperplasie mit zahlreichen Germinalzentren und Follikeln aus B-Zellen, so dass die Thymi histologische Ähnlichkeiten mit Lymphknoten aufweisen (Meriggioli und Sanders, 2009). Sowohl in den Thymi gesunder Personen

als auch bei MG-Patienten können muskelähnliche Myoidzellen, die AChR exprimieren, gefunden werden (Schluep et al., 1987). Jedoch nur B-Zellen, die aus den Thymi von MG-Patienten isoliert wurden, produzieren spontan AChR-Autoantikörper (Scadding et al., 1981). Die Gruppe dieser Patienten weist nach einer Thymektomie eine deutliche Reduktion der Antikörpertiter auf und profitiert hiervon klinisch am deutlichsten (Kuks et al., 1991).

Bei der TAMG hingegen führt die Thymektomie häufig zu keiner Besserung der Symptomatik. Thymome werden nach einer WHO-Klassifikation eingeteilt. Man unterscheidet Typ A (medulläre Lokalisation), Typ AB (gemischte Lokalisation), Typ B1 (vorwiegend kortikale Lokalisation), Typ B2 (rein kortikale Lokalisation) sowie Typ B3 (gut differenziertes Thymuskarzinom) und Typ C (Karzinom) (Marx und Müller-Hermelink, 1999). In der Regel lösen Typ C Thymuskarzinome keine MG aus (Marx et al., 1997). Dass in Thymomen weder AChR-Ak noch AChR-Ak exprimierende myoidzellen nachweisbar sind, unterstützt die generelle Annahme, dass sich die TOMG pathogenetisch von der EOMG unterscheidet (Vincent, 2002).

Patienten mit einer LOMG besitzen in der Regel einen atrophierten, involutierten Thymus, welcher keine relevanten Unterschiede zum physiologischen altersinvolutierten Thymus hat (Marx et al., 1997). Die Rolle des Thymus in der Pathogenese dieser Untergruppe bleibt bisher ungeklärt.

2.1.2.6 Modelle zur Pathogenese

Trotz der zahlreichen gewonnenen Erkenntnisse in der Pathophysiologie der MG bleibt insbesondere die Ätiologie der Erkrankung unklar. Es ist offen, ob der AChR primär das verantwortliche Antigen darstellt, oder ob bspw. durch molekulares Mimikry körperfremde Strukturen wie virale Proteine den Autoimmunprozess induzieren.

Einer Hypothese zur Entstehung der EOMG nach kommt es durch Interaktion von AChR-spezifischen T-Helferzellen und Thymuszellen zur Produktion von primären Autoantikörpern durch B-Zellen. Ein intrathymischer Kontakt mit Myoidzellen führt zur Inflamationsreaktion mit Komplementaktivierung, Immunkomplexformation und Hyperplasie der germinalen Zentren des Thymus. Es kommt zur Veränderung der AChR-Ak und letztlich zur Erkennung des muskulären AChR (Willcox et al., 2008).

Bei der TAMG wird vermutet, dass potentiell autoimmunogene T-Zellen durch eine defekte Thymopoese ins periphere Blut gelangen. Entweder durch molekulares Mimikry infektiöser Agentien oder zytolytische Freisetzung von Antigenen der motorischen Endplatte kommt es zur Aktivierung der autoimmunogenen T-Zellen und nach B-Zell-Aktivierung zur AChR-Ak-Produktion (Marx et al., 2003).

Es zeigten sich in der klonalen Expansion von $CD8^+$ -Zellen Ähnlichkeiten zwischen der TAMG und LOMG, so dass eine residuale Thymopoese bei der LOMG trotz der histopathologischen Befunde postuliert werden kann (Tackenberg et al., 2009). Diese $CD8^+$ -Zellen könnten- ähnlich der TAMG- durch Zytolyse eine Freisetzung myasthenogener Epitope bewirken. Über molekulares Mimikry und epitope spreading könnte es zur Aktivierung peripherer AChR-spezifischer $CD4^+$ -Zellen kommen und über B-/T-Zell-Interaktion in den Lymphknoten zur einer AChR-Ak-Produktion führen (Tackenberg, 2010). Eine Unterhaltung der Autoimmunreaktion könnte durch fortgesetzte Lyse myasthenogener Epitope durch CD8-Zellen oder AChR-Ak auch ohne weitere Thymopoese erfolgen und somit die fehlenden histologischen Pathologika bei der LOMG erklären (Marx et al., 1997).

2.1.3 Klinische Symptomatik und Verlauf

Klinisches Hauptmerkmal der MG ist die abnorme, belastungsabhängige Schwäche der Skelettmuskulatur mit Besserung in Ruhe. In der Mehrzahl der Fälle sind bei Erstmanifestation die äußeren Augenmuskeln und Lidheber betroffen (Grob et al., 2008). Die Ursache dafür sind strukturelle Unterschiede im Aufbau der äußeren Augenmuskeln im Vergleich zur übrigen Skelettmuskulatur: Es finden sich eine weniger ausgeprägte postsynaptische Fältelung und eine relativ geringere Dichte an AChR (Khanna und Porter, 2002). Klinisch äußert sich dies bei den Patienten durch Doppelbilder und eine Ptose. Innerhalb von zwei bis drei Jahren kommt es bei den meisten Patienten zur Ausbildung einer generalisierten Myasthenie. Etwa 15% leiden an der rein okulären Form (Robertson et al., 1998). Bei bulbärer Symptomatik stehen Dysarthrophonie, Dysphagie, Kaumuskellähmungen und konsekutive Dyspnoe im Vordergrund. Patienten, deren Extremitätenmuskulatur vorwiegend betroffen ist, imponieren klinisch durch eine asymmetrische proximale Muskelschwäche. Zudem findet sich in einem nicht unerheblichen Teil der Fälle eine Myasthenie der Rumpfmuskulatur.

Infektionen, insbesondere der oberen Atemwege und Pneumonien, Medikamente, welche die neuromuskuläre Übertragung stören oder das Auslassen der Cholinesterase-Inhibitoren bzw. Immunsuppressiva (insbesondere Azathioprin) können zu akuten Exazerbationen der MG führen (Hohlfeld et al., 1985). Die Myasthene Krise ist als akute Ateminsuffizienz bei MG-Patienten, welche einer mechanischen Ventilation bedarf, definiert (Thomas et al., 1997). In den 1950er Jahren lag die Mortalität der Myasthenen Krise noch bei über 30 % (Cohen und Younger, 1981). Fortschritte in intensivmedizinischen Verfahren, die frühzeitige Antibiotikatherapie und Immuntherapien wie der Einsatz von Steroiden und intravenösen Immunglobulinen haben die Mortalitätsraten auf unter 5% gesenkt (Alshekhlee et al., 2009). Vermutlich ist durch die immunsuppressive Therapie die Inzidenz der Myasthenen Krise insgesamt seltener geworden (Juel, 2009; Rozsa et al., 2009). Heutzutage ist die Myasthene Krise eine seltene, aber immer noch akut lebensbedrohliche Situation.

Innerhalb der ersten ein bis zwei Jahre der Krankheit treten die ausgeprägtesten Symptome auf, in der Mehrzahl der Fälle kommt es jedoch im weiteren Verlauf zu einer Verbesserung der Symptomatik bzw. einer Remission der Erkrankung (Grob et al., 2008).

2.1.4 Diagnostik

Bei typischer Klinik wird die Diagnose der MG durch den Nachweis der pathognomonischen AChR-Ak gestellt. In Fällen negativer Ak kann eine seronegative MG durch weitere Tests bewiesen werden:

- Edrophonium-Chlorid-Test (intravenöse Gabe eines kurzwirksamen Acetylcholinesteraseinhibitors)
- Elektrophysiologische Diagnostik
 - Repetitive Nervenstimulation
 - Einzelfaserelektromyographie
- Serologischer Nachweis von anti-MuSK-Ak.

2.1.5 Therapie

Die Therapie der MG besteht aus drei Säulen: Zum einen sind dies die symptomatisch wirksamen Acetylcholinesterasememmer, z.B. Pyridostigmin. Zweitens spielen Immunsuppressiva die zentrale Rolle zur Besserung und Stabilisierung der MG. Des Weiteren

stellt die elektive Thymektomie nicht nur für Patienten mit Thymom, sondern auch für Patienten der EOMG-Subgruppe eine in Studien der Evidenzklasse III belegte Therapieoption dar (Skeie et al., 2010). Insgesamt gibt es nur eine geringe Anzahl prospektiver, randomisierter Therapiestudien, so dass es an Evidenz für die klinische Wirksamkeit vor allem bei einigen Immunsuppressiva mangelt (Hart et al., 2009).

2.1.5.1 *Acetylcholinesterasehemmer*

Bereits 1934 wurde die Wirksamkeit des Acetylcholinesterasehemmers Physostigmin zur Behandlung der MG entdeckt (Walker, 1934). Pyridostigmin ist das heutzutage in Deutschland am häufigsten angewendete Mittel dieser Art. Die Applikation erfolgt oral. Eine retardierte Form verlängert die Wirkdauer von 3 bis 5 auf etwa 6 bis 10 Stunden (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2012).

Durch Bindung der Substanz an das katalytische Zentrum der AChE der neuromuskulären Synapse kommt es zu einer Erhöhung der ACh-Konzentration im synaptischen Spalt. Aufgrund der kompetitiven Bindung von AChR-Ak und ACh am Rezeptor, führt dies zu einer symptomatischen Verbesserung der MG.

Unerwünschte Wirkungen lassen sich durch die Hemmung der AChE an muskarinergen AChR parasymphatisch innervierter Organe erklären. Schweißausbruch, Speichelfluss, Tränenfluss, erhöhte Bronchialsekretion, Übelkeit, Erbrechen, Durchfälle, Bauchkrämpfe (gesteigerte Peristaltik), verstärkter Harndrang, Muskelzittern, Muskelkrämpfe, Muskelschwäche, Akkommodationsstörungen oder, nach Einnahme höherer Dosen, Bradykardie sind die in den Fachinformationen genannten Nebenwirkungen (Valeant Pharmaceuticals International, 2000). Es besteht bei Überdosierung der Medikamente die Gefahr der Auslösung einer cholinergen Krise. Dies tritt heutzutage fast ausschließlich bei intravenöser Gabe im Rahmen intensivmedizinischer Behandlungen auf (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2012).

2.1.5.2 *Immunsuppressiva*

Es gibt verschiedene immunsuppressiv wirkende Medikamente, die den Verlauf einer MG günstig beeinflussen können. Problematisch ist der häufige Einsatz dieser Medikamente als sogenannter „off-label-use“, da es an randomisierten Studien der Klasse-I-Evidenz mit ausreichender Patientenfallzahl mangelt. In den letzten Jahren haben sich vier Cochrane-Reviews mit der systematischen Bewertung einzelner Therapieformen

beschäftigt. Trotz der geringen Zahl an Plazebo-kontrollierten Studien zeigten Schneider-Gold et al., dass MG-Patienten von einer Therapie mit Glukokortikosteroiden (GKS) signifikant profitieren (Schneider-Gold et al., 2005). Die Wirkung der GKS beruht auf der Hemmung der Aktivierung proinflammatorischer Zytokine, der Unterdrückung der Immunglobulinproduktion und der Veränderung funktioneller Eigenschaften der zellulären Immunantwort (Gold et al., 2001). Die Nebenwirkungen der GKS in der Langzeittherapie sind zahlreich, so dass heutzutage bei der MG am häufigsten Azathioprin als Immunsuppressivum zur Reduktion der GKS angewendet wird.

Azathioprin ist ein Pro-Drug und wird im Körper in die wirksame Form 6-Mercaptopurin umgewandelt. Dieses wird als Antimetabolit anstelle der Purinbasen Adenin und Guanin in die DNA und RNA eingebaut und reduziert dadurch die Proliferation von T- und B-Zellen. Die Wirkung tritt erst nach drei bis sechs Monaten ein (Witte et al., 1984). Azathioprin ist zur Behandlung der MG zugelassen. Durch eine Studie mit Klasse-I-Evidenz ist die Wirksamkeit in Kombination mit GKS nachgewiesen (Palace et al., 1998). Auch wenn Hart et al. in einer Meta-Analyse der Cochrane Collaboration keinen signifikanten Benefit durch die Therapie mit Azathioprin im Vergleich zu GKS fanden (Hart et al., 2009), gilt Azathioprin als Mittel der ersten Wahl zur Dauertherapie der MG (Sanders und Evoli, 2010).

Geringe Evidenz für eine Verbesserung der MG-Symptomatik ließ sich aus zwei kleinen randomisierten-kontrollierten Studien für den Einsatz des Calcineurin-Inhibitors Ciclosporin nachweisen (Hart et al., 2009). Weitere eingesetzte Immunsuppressiva sind Cyclophosphamid, Mycophenolatmofetil, Methotrexat und Tacrolimus (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2012). Durch die Immunsuppression erhöhen all diese Medikamente allerdings das Risiko viraler und bakterieller sowie opportunistischer Infektionen.

Zur Behandlung besonders schwerer, therapierefraktärer Fälle und der Myasthenen Krise haben sich die Plasmapherese, die Immunadsorption, die Cyclophosphamidtherapie und die intravenöse Gabe hochdosierter Immunglobuline (IVIg) etabliert (Gajdos et al., 1997; Patwa et al., 2012).

2.1.5.3 *Thymektomie*

Bereits 1911 wurde von Ernst Ferdinand Sauerbruch die erste Thymektomie bei einer MG-Patientin durchgeführt (Fischer und Bland, 2007). Blalock et al. zeigten, dass sich die Entfernung des Thymus günstig auf den Verlauf der MG auswirkt (Blalock et al., 1941).

Es gibt keine Daten zum Vergleich der Thymektomie mit einer üblichen Immunsuppression. Eine Thymektomie wird bei Patienten mit einer early-onset MG im ersten Jahr nach Krankheitsmanifestation empfohlen (Conti-Fine et al., 2006). Bei Patienten mit Thymom muss unter Berücksichtigung des individuellen Operationsrisikos immer eine Thymektomie erfolgen. Standardoperationszugang ist die transsternale Thorakotomie, wobei durch die Fortschritte endoskopischer Operationsmethoden vor allem bei fehlendem Hinweis auf ein Thymom immer häufiger die thorakoskopische Thymektomie durchgeführt wird (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2012).

2.2 Influenza und Impfung

Influenza-Viren sind Auslöser einer akuten febrilen Infektionskrankheit meist der oberen Atemwege. Im folgenden Kapitel soll auf die Erkrankung, ihre epidemiologische Bedeutung und die Möglichkeiten zur Prävention der Erkrankung insbesondere bei Risikopatienten durch die saisonale Influenza-Impfung eingegangen werden.

2.2.1 Influenza-Erkrankung

2.2.1.1 *Virale Eigenschaften*

Bei den Influenza-Viren wird zwischen Influenza-A, -B und -C unterschieden. Sie gehören zur Familie der Orthomyxoviridae. Es handelt sich um RNA-Viren, deren Genom charakteristischerweise in acht genomische Segmente aufgeteilt ist und für bis zu elf virale Proteine kodieren (PB1, PB2, PA, NP, HA, NA, M1, M2, NS1, NEP/NS2 und PB1-F2) (Fields et al., 2007). Die Subtypen der Influenzaviren unterscheiden sich in Bezug auf ihr Genom und damit exprimierter viraler Proteine, ihre Verbreitungsart und Wirtsspezifität sowie im klinischen Erscheinungsbild. Auf die seltene und in der Regel milde verlaufende Influenza-C soll im Weiteren nicht eingegangen werden.

Die in Form und Größe heterogenen Viren sind von einer Lipidhülle begrenzt und haben einen Durchmesser von 80 bis 120 nm. An ihrer Oberfläche ragen zwei Glykoproteine aus der Zellmembran: Es sind das Hämagglutinin (HA) und die Neuraminidase (NA), welche die bedeutsamsten Antigene des Virus darstellen. Das stachelförmige HA sorgt für die Bindung des Virus an die Rezeptoren der Zielzelle. Die NA ist eine pilzförmige Struktur, die ein enzymatisches Zentrum beinhaltet, das Neuraminsäure-haltige Moleküle binden kann. Dadurch gelingt es dem Virus, sich nach Infektion der Zielzelle wieder von dessen Oberfläche zu lösen (Fields et al., 2007). Beim Influenza-A-Virus führen verschiedene Subtypen des HA und der NA zu einer bedeutenden Heterogenität. Derzeit sind 16 HA und 9 NA Subtypen bekannt (Fouchier et al., 2005). Diese werden auch für die Nomenklatur der Influenza-A-Viren verwendet. Im Unterschied zu Influenza-B kann das Influenza-A-Virus neben dem Menschen auch Tiere wie beispielsweise Schweine und Pferde befallen. Das natürliche Reservoir des Erregers sind Gänsevögel (Webster et al., 1992). Beim Menschen sind am häufigsten die Subgruppen A/H1N1 und A/H3N2 für eine Influenza-A verantwortlich. Bei der Influenza-B gibt es keine solche Subgruppierung, allerdings wird zwischen der Yamagata- und der Victoria-Linie unterschieden, die vor allem in der Struktur des HA voneinander abweichen (Rota et al., 1990).

Die Hüllproteine verändern sich kontinuierlich. Zwei Mechanismen sind hierbei von Bedeutung: Der sogenannte Antigendrift basiert auf Punktmutationen im Genom der Viren. Dies führt zu kleinen Veränderungen der Antigenität und damit zur fehlenden Immunität eines Wirtes nach vorheriger Infektion mit genetisch anderen Influenza-Viren. Antigendrift ist bei Influenza A und B möglich. Der Antigenshift hingegen ist ein seltener stattfindendes Ereignis. Hierbei werden ganze Genomsegmente zwischen einzelnen Influenza-Subtypen ausgetauscht, was als Reassortment bezeichnet wird. Voraussetzung dafür ist eine Doppelinfektion des Wirtes mit zwei verschiedenen Influenza-A-Viren (Mandell et al., 2010). Das neu entstandene Virus hat gegenüber den Vorläuferviren einen Selektionsvorteil und besitzt daher eine hohe Pathogenität. Antigenshifts werden für große Epidemien und Pandemien verantwortlich gemacht (Haas, 2009).

2.2.1.2 *Epidemiologie*

Die Zahl der Influenzaerkrankung zeigt eine jahreszeitabhängige Verteilung. So werden in den Wintermonaten 5 bis 20 % der Bevölkerung mit dem Virus infiziert. Da nur der direkte Erregernachweis meldepflichtig ist, betrug die Anzahl der offiziellen Influenzaerkrankungen in Deutschland im Jahr 2007 18.900 und im Jahr 2008 14.851, was einer Inzidenz von 23 beziehungsweise 18 Fällen pro 100.000 Einwohnern entspricht (RKI, 2009a). Etwa 8.000 bis 11.000 Influenza-assoziierte Todesfälle treten jährlich in Deutschland auf, wobei diese Zahl durch Epidemien oder Pandemien deutlich höher ausfallen kann. Es wird geschätzt, dass in den USA etwa 51.000 Tote jährlich der Influenza zum Opfer fallen (Thompson et al., 2003). In der Mehrzahl der Fälle sind dies ältere Patienten mit Vorerkrankungen. Andere Untersuchungen zeigten, dass Kinder und Jugendliche am häufigsten von einer Influenza-Erkrankung betroffen sind. So erkrankten in den USA jährlich etwa 15 Millionen Menschen unter 20 Jahren an Influenza-assoziierten respiratorischen Erkrankungen (Sullivan et al., 1993). Die Krankheitslast der Influenza kann darüberhinaus auch über die Zahl der Krankenhauseinweisungen, der Arbeitsunfähigkeiten und die Zahl der Arztkonsultationen abgeleitet werden. Für die Saison 2008/2009 wird in Deutschland die Zahl der Konsultationen mit 4.255.000, die Zahl der Hospitalisierungen mit 18.000 und die Zahl der Arbeitsunfähigkeiten mit 1.687.000 angegeben (Arbeitsgemeinschaft Influenza, 2009).

Deutlich höher fallen die Erkrankungs- und Mortalitätszahlen im Rahmen einer Pandemie aus. Sie sind dadurch definiert, dass ein genetisch neues Virus, gegen das die Mehrzahl der Menschen nicht immun ist, sich weltweit ausbreitet. Seit Beginn des 20. Jahrhunderts gab es fünf Pandemien (1918, 1957, 1968, 1977, 2009). Alleine durch die sogenannte „Spanische-Grippe“ von 1918 bis 1920 starben schätzungsweise 40 bis 50 Millionen Menschen (Potter, 2001).

Insgesamt hat die Influenza-Erkrankung dadurch bedeutende ökonomische und gesamtgesellschaftliche Auswirkungen. Umso wichtiger erscheint in dieser Hinsicht eine wirksame Prävention.

2.2.1.3 *Übertragung*

In der Regel geschieht die Übertragung der Influenzaviren durch Tröpfcheninfektion von Mensch zu Mensch. Ein weiterer Infektionsweg ist der indirekte Kontakt mit kon-

taminierten Oberflächen (Hall, 2007). Influenzaviren sind - abhängig von ihrer Umgebung- Tage bis Wochen auf solchen Oberflächen überlebensfähig (Bean et al., 1982).

Die Zielzellen des Influenza-Virus sind Flimmerepithelien und Becherzellen des Tracheobronchialtraktes. Dort heftet das Virus über das HA an Sialinsäure-haltige Rezeptoren an (Shinya et al., 2006). Über Endozytose gelangt das Virus in das Innere der Zelle, wo es zunächst in einem Endosom gespeichert ist (Matlin et al., 1981). Durch den sauren pH-Wert im Endosom kommt es zu einer Konformationsänderung des HA, das dadurch mit der Membran des Endosoms fusioniert (Bullough et al., 1994). Zum anderen löst sich die Bindung zwischen dem M1-Protein und den Ribonucleoprotein (RNP). Dadurch kann über RNP die Virus-RNA ins Zytoplasma der Wirtszelle gebracht werden. Es folgt im Zellkern die Translation der viralen Proteine und Replikation der RNA. Die Proteine lagern sich der inneren Zellmembran an und werden als neu gebildete Viren abgeschnürt (Knospung) (Bouvier und Palese, 2008).

Die Replikation dauert vier bis sechs Stunden, die Virusfreisetzung weitere Stunden, so dass bereits am ersten Tag nach einer Infektion hohe Virustiter in den Sekreten des Respirationstraktes nachweisbar sind. Die Inkubationszeit beträgt durchschnittlich zwei Tage, die Zeitspanne, in denen Erkrankte infektiös sind, etwa vier bis fünf Tage (Carrat et al. 2008).

2.2.1.4 Krankheitsverlauf, Symptomatik, Komplikationen

Klassischerweise entwickeln sich die Symptome einer akuten Influenzainfektion sehr abrupt. So kommt es nach einer Inkubationszeit von einem bis vier Tagen zu den Kardinalsymptomen Fieber $>37,8^{\circ}$ Celsius (in 68% der Fälle), Husten (93%), Muskel- und oder Kopfschmerzen (94%, 91%). Zu den weiteren häufigen Symptomen zählen allgemeines Krankheitsgefühl (94%), Appetitlosigkeit (92%), Rhinitis (91%) und Halsschmerzen (84%) (Monto et al., 2000). Insbesondere bei Kindern ist die Krankheitsmanifestation häufig atypisch. Hier finden sich beispielsweise Übelkeit und Erbrechen, Mittelohrentzündungen und Fieberkrämpfe (Cate, 1987).

In der Regel dauert die Erkrankung fünf bis sieben Tage. Schwere Verlaufsformen sind durch die möglichen Komplikationen bedingt. Meist sind es Kinder, Alte und Personen mit Vorerkrankungen, deren Infektion kompliziert verläuft. Die Entwicklung einer Pneumonie kann primär viralen Ursprungs sein, aber auch durch eine sekundäre bakte-

rielle Infektion ausgelöst werden. Die Differentialdiagnose der beiden Entitäten gestaltet sich häufig schwierig. Zu den weiteren Krankheitskomplikationen zählen Exazerbationen chronisch pulmonaler Erkrankungen wie Asthma bronchiale und chronisch obstruktive Lungenerkrankung, Myokarditis, Myositis, Enzephalitis, Guillain-Barré-Syndrom und bei Kindern das Pseudokrupp-Syndrom sowie das Reye-Syndrom, das sich durch die Gabe von Acetylsalicylsäure entwickelt (Haas, 2009).

2.2.1.5 Diagnostik

Einen wichtigen Stellenwert, vor allem auf dem ambulanten Versorgungssektor, nimmt die Diagnosestellung anhand klinischer Symptome ein. Wenn die typischen klinischen Symptome im Rahmen einer Influenzawelle auftreten, ist die Wahrscheinlichkeit für eine Influenza-Infektion hoch. Monto et al. zeigten, dass der positiv prädiktive Wert für eine Influenza-Infektion beim Vorliegen von Fieber und Husten bei 79% liegt (Monto et al., 2000).

Der direkte Erregernachweis spielt bei der unkomplizierten Influenza eine untergeordnete Rolle, da in diesen Fällen ohnehin rein symptomatisch therapiert werden sollte. Das Robert-Koch-Institut (RKI) empfiehlt bei schweren Fällen und Komplikationen vor Beginn einer antiviralen Therapie eine Probenentnahme durchzuführen (RKI, 2009b). Nasen- und Rachenabstriche sind hierfür ebenso geeignet wie eine nasale Lavage. Es gibt verschiedene labortechnische Verfahren, die sich für den Erregernachweis anbieten, wobei die real-time-Polymerasekettenreaktion (PCR) in Bezug auf Sensitivität und Spezifität anderen Verfahren überlegen ist (van Elden et al., 2001). Sogenannte „Schnelltests“ haben sich in der ambulanten Versorgung etabliert. Diese liefern meist nach 15 bis 30 Minuten ein Testergebnis. Die Sensitivität dieser Tests ist jedoch eingeschränkt (Nicholson et al., 2003).

2.2.1.6 Antivirale Therapie

Zur antiviralen Therapie stehen die Neuraminidasehemmer Zanamivir und Oseltamivir sowie die M2-Membranproteinhemmer Amantadin und Rimantadin zur Verfügung. Oseltamivir und Zanamivir unterscheiden sich in erster Linie in ihrer Applikationsform: So wird Oseltamivir oral und Zanamivir inhalativ verabreicht. Durch die Hemmung der NA wird die Freisetzung neugebildeter Viren verhindert (Moscona, 2005). Die NA-Hemmer wirken gegen Influenza-A- und B-Viren, wohingegen Amantadin/ Rimantadin

nur gegen Influenza-A wirksam sind, da in Influenza-B-Viren das M2-Protein nicht vorkommt. Neben einem ausgeprägten Nebenwirkungsprofil (u.a. gastrointestinale Störungen, Halluzinationen, Konzentrations- und Schlafstörungen) weisen die Admantane eine hohe Resistenzrate gegenüber den in den letzten Jahren zirkulierenden Influenza-A-Viren auf (Deyde et al., 2009). Daher sollte von der routinemäßigen Gabe der M2-Blocker abgesehen werden (Jefferson et al., 2006).

Die NA-Hemmer weisen ein günstigeres Nebenwirkungsprofil auf. Bei Oseltamivir treten Übelkeit und Erbrechen vor allem bei Kindern häufig auf. Da die NA-Hemmer die Vermehrung und Ausbreitung des Virus verhindern, sollte die Gabe innerhalb von 48 Stunden nach Auftreten der Symptome erfolgen. Resistenzen treten seltener auf als bei den Admantanen (Aoki et al., 2007). Einer Cochrane-Analyse zu Folge ist der Einfluss der Medikamente auf die Krankheitssymptome und die Krankheitsdauer als moderat anzusehen. Eine routinemäßige Gabe der NA-Hemmer wird bei saisonaler Influenza nicht empfohlen und die breite Anwendung sollte nur im Falle einer Pandemie erfolgen (Jefferson et al., 2009). Auch das RKI empfiehlt, bei der saisonalen Influenza die NA-Hemmer nur Risikokollektiven und Patienten mit Komplikationen zu verabreichen (RKI, 2009b).

2.2.2 Influenza-Impfung

Bereits 1943 wurden inaktivierte Influenza-Viren als Lebendimpfung bei gesunden Personen erprobt (Francis et al., 1945). Die Verträglichkeit der Impfstoffe schränkte jedoch zu diesem Zeitpunkt die breite Anwendung erheblich ein. Erst in den 1960er Jahren wurde die Verträglichkeit des Impfstoffes und die Produktivität der Herstellung verbessert. Die zu diesem Zeitpunkt eingesetzten Impfstoffe waren nicht mehr inaktivierte Lebendimpfstoffe, sondern Ganzvirusimpfstoffe. Diese besitzen bis heute die größte Immunogenität, führen also im Allgemeinen zu einer höheren Antikörperproduktion, haben dadurch aber ein ungünstigeres Nebenwirkungsprofil (Gross et al., 1977) als die heutzutage größtenteils eingesetzten Spaltimpfstoffe und Untereinheitenimpfstoffe. Diese enthalten als Hauptbestandteile virale Proteine. In erster Linie sind dies die Oberflächenglykoproteine Hämagglutinin und Neuraminidase. Spaltimpfstoffe besitzen im Gegensatz zu Untereinheitenimpfstoffen meist noch weitere virale Proteine wie das Matrix- oder Nukleoprotein (Haas, 2009).

2.2.2.1 Indikation

Die Richtlinien zur Anwendung von Impfungen in Deutschland werden von der Ständigen Impfkommission (STIKO) des RKI erstellt. Bezüglich der Influenza-Impfung werden Standardimpfungen, Indikationsimpfungen und Impfungen aufgrund eines erhöhten beruflichen Expositionsrisikos unterschieden. Standardimpfungen werden in diesem Zusammenhang auch als Regelimpfungen bezeichnet, die im Impfkalendar der STIKO aufgeführt sind. Sie sind generell indiziert bei Personen, die mindestens 60 Jahre alt sind. Von Indikationsimpfungen spricht die STIKO, wenn ein individuell (nicht beruflich) erhöhtes Expositions-, Erkrankungs- oder Komplikationsrisiko besteht. Beispielsweise werden hierfür folgende Grunderkrankungen aufgeführt:

- Chronische Atemwegserkrankungen,
- chronische Herz-Kreislauf-, Leber-, und Nierenerkrankungen,
- Diabetes mellitus und andere Stoffwechselerkrankungen,
- chronische neurologische Krankheiten, z.B. Multiple Sklerose mit durch Infektionen getriggerten Schüben,
- Personen mit angeborenen oder erworbenen Immundefekten mit T- und/ oder B-zellulärer Restfunktion,
- Schwangere ab dem 2. Trimenon, bei erhöhter gesundheitlicher Gefährdung infolge eines Grundleidens bereits ab dem 1. Trimenon,
- HIV-Infizierte und
- Bewohner von Alten- oder Pflegeheimen (RKI, 2012).

Hierbei ist anzumerken, dass erst in den Empfehlungen von 2010 die chronischen neurologischen Erkrankungen in die STIKO-Empfehlungen aufgenommen wurden. Im Jahr zuvor wurde hier nur explizit die Multiple Sklerose genannt, bei der sich die Schubrate durch akute Infekte verschlechtert (Sibley et al., 1985). Begründet wird dies mit dem erhöhten Krankheits- und Mortalitätsrisiko bei Patienten mit neurologischen Grunderkrankungen und besonders auch neuromuskulären Erkrankungen während der H1N1-Influenzapandemie 2009 (Louie et al., 2009; Schaade et al., 2009).

Personen mit erhöhter beruflicher Gefährdung sind in erster Linie medizinisches Personal. Diese sind nicht nur durch eine erhöhte Exposition gefährdet, selbst an einer Influenza zu erkranken, sondern vor allem die Erkrankung an weitere Patienten oder Pflegebedürftige zu übertragen (Gilbert et al. 2010). Die Impfung des Personals in Pflege-

heimen führte bei den Bewohnern zu einer signifikanten Senkung der Gesamtmortalität im Vergleich zu Pflegeheimen, in denen dem Personal keine Impfung angeboten wurde (Carman et al. 2000). Zudem werden von der STIKO Personen in diese Gruppe einbezogen, die in Einrichtungen arbeiten, welche durch einen großen Publikumsverkehr gekennzeichnet sind sowie Personen in regelmäßigem Kontakt mit ungeimpften Risikopersonen oder in Kontakt mit Geflügel oder Wildvögeln (RKI, 2012).

Viele Gemeinsamkeiten, aber auch einige Unterschiede weist das US-amerikanische Äquivalent der STIKO-Empfehlungen, die Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) 2010, auf. Hier wird im Unterschied zu den Empfehlungen des Vorjahres bereits die generelle Impfempfehlung für Personen ab dem 6. Lebensmonat ausgesprochen. Zuvor wurde den gesunden 19- bis 49-jährigen die Impfung nicht empfohlen (Fiore et al., 2009b). Insbesondere betrifft dies Kinder zwischen dem 6. Lebensmonat und dem 4. Lebensjahr, da vor allem in diesem Lebensabschnitt die Rate an Influenza-bedingten Hospitalisierungen hoch ist (Izurietta et al., 2000). Insgesamt schließen die Richtlinien des ACIP damit einen deutlich größeren Anteil der Bevölkerung als die STIKO-Empfehlungen ein (Fiore et al., 2010).

2.2.2.2 *Wirksamkeit und Nutzen*

Dadurch, dass die Influenza-Impfung bereits seit über 40 Jahren breite Anwendung findet, gibt es zahlreiche Studien, welche die Impfung vor allem hinsichtlich ihrer Wirksamkeit und ihres Nutzens untersucht haben. Zwei Cochrane-Meta-Analysen beschäftigten sich mit dem Impfschutz bei gesunden Erwachsenen sowie bei älteren Menschen (65 Jahre oder älter).

Zuvor sollten die Begriffe der „Vaccine effectiveness“ und „Vaccine efficacy“ erläutert werden: Häufig wird in der wissenschaftlichen Literatur die Unterscheidung der Begriffe „efficacy“ und „effectiveness“ ignoriert. Im Deutschen lassen sich diese Begriffe am ehesten als Wirksamkeit und Nutzen übersetzen (Windeler und Antes). Die „Vaccine efficacy“ meint die Wirksamkeit der Impfung unter Idealbedingungen (beispielsweise im Rahmen einer Placebo-kontrollierten, randomisierten Studie). Sie wird als Reduktion der Anzahl an Influenza-Neuerkrankungen in einer geimpften im Vergleich zu einer nicht geimpften Population definiert. Sie ist damit stark abhängig vom Studienkollektiv mit Begleiterkrankungen, Medikamenteneinnahmen, früheren Impfungen und hohen

Antikörperausgangswerten. Sie lässt sich damit nicht grundsätzlich auf den Nutzen eines Impfprogrammes für eine Gesamtpopulation übertragen (Hannoun et al., 2004). Die unter alltäglichen Bedingungen erreichbare Wirksamkeit einer medizinischen Intervention für den Patienten wird gemeinhin als „effectiveness“ bezeichnet (Windeler und Antes). Typischerweise wird sie durch große epidemiologische Studien abgeschätzt.

Jefferson et al. zeigten anhand von 40 Studien mit über 70.000 gesunden Erwachsenen (jünger als 65 Jahre), dass 4% der nicht-geimpften gegenüber 1% der geimpften Teilnehmer eine Influenza entwickelten (Risiko-Differenz 3%, 95%-KI 2% - 5%), vorausgesetzt der Impfschutz deckt den zirkulierenden Virenstamm ab. Neben einer moderaten Einsparung von Krankheitstagen hatte die Influenza-Impfung keinen Effekt auf die Zahl an Krankenhauseinweisungen. Kritisiert wird von den Autoren, dass bei den industriell finanzierten Studien (15 von 40) tendenziell günstigere Ergebnisse vorzufinden waren (Jefferson et al., 2010b). Verschiedene Kosten-Effektivitäts-Analysen erbrachten widersprüchliche Resultate (Bridges et al., 2000; Nichol et al., 1995).

Der zweite Cochrane-Review beschäftigte sich mit der Effektivität der Impfung hinsichtlich der Prävention der Influenza-Erkrankungen, der Grippe-ähnlichen Erkrankungen (influenza-like-illness), Krankenhausaufnahmen, Krankheitskomplikationen und der Mortalität speziell bei Personen älter als 65 Jahre. In diesem Kollektiv ist vor allem mit einer höheren Komplikationsrate bedingt durch ein häufigeres Vorkommen von Begleiterkrankungen sowie mit einer leichteren Ausbreitung des Virus durch Unterbringung in Gemeinschaftseinrichtungen wie Alten- und Pflegeheimen zu rechnen. Etwa 90% der Influenza-assoziierten Todesfälle treten in dieser Altersgruppe auf (Hannoun et al., 2004). Von 75 eingeschlossenen Studien war nur eine randomisiert und kontrolliert. Insgesamt wurde die geringe Qualität der übrigen Studien kritisiert, wodurch sich keine Vergleichbarkeit ergab und letztlich keine abschließende Aussage über die Wirksamkeit der Impfung bei Älteren getroffen werden konnte (Jefferson et al., 2010a).

Andere Studien mit kleineren Fallzahlen und spezifischeren Fragestellungen haben sich mit der humoralen Immunantwort nach einer Influenza-Impfung beschäftigt. Hierbei wurden zumeist Antikörper vom IgG-Typ gegen Hämagglutinin (HA) der Influenza A und B bzw. der einzelnen Influenza-Stämme H1N1, H3N2 und B bei den Probanden vor und nach der Immunisation bestimmt. Anti-Hämagglutinin-Ak verhindern eine Adhäsion des Virus an die Zielzelle. Damit sind diese Antikörper ein konzentrationsabhängiger

Surrogatmarker eines Schutzes vor Influenza oder zumindest ein krankheitslimitierender Faktor (Brydak und Machala, 2000). Es herrscht also eine inverse Korrelation zwischen HA-Antikörpertiter und der Anfälligkeit für eine Influenza-Infektion (Potter et al., 1977). Bei Antikörpertitern zwischen 30 und 40 Einheiten im Hämagglutinin-Hemmtest (HAI) kann von einem 50-prozentigem Schutz gegen eine Infektion ausgegangen werden. Hohe Titer (>160) zeigen einen etwa 90-prozentigen Schutz an (Wesseliuss-de Casparis et al., 1972).

2.2.2.3 *Impfung, Autoimmunerkrankungen und Immunsuppression*

Faktoren wie Alter, Komorbiditäten und Begleitmedikation können die Wirksamkeit einer Impfung negativ beeinflussen. Insgesamt ist die Datenlage zahlreicher Studien zum Gewicht dieser Einflussgrößen auf die Immunantwort widersprüchlich. Brydak und Machala haben sich in einer Meta-Analyse gezielt mit der Frage beschäftigt, wie die Immunantwort auf die Impfung in Hochrisiko-Patientenkollektiven ist. Es wurden Studien einbezogen, die Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen, Niereninsuffizienz, Diabetes mellitus, Hämophilie und HIV-Infizierte untersuchten. Auch hier wurde erneut eine diskrepante Datenlage geschildert. Einige Studien fanden mit gesunden Individuen vergleichbare Ergebnisse, andere wiederum ein schlechtes humorales Ansprechen auf die Immunisation. Die Autoren erklären dies mit unterschiedlichen Krankheitsstadien der Patienten, Altersunterschieden und Differenzen in den Ausgangsantikörperwerten (Brydak und Machala, 2000).

Wenige kontrollierte Daten liegen zur Influenza-Impfung bei Autoimmunerkrankungen vor. Eine Publikation fasste Ergebnisse zur Influenza-Impfung beim systemischen Lupus erythematodes (SLE) zusammen: Die Immunantwort ist demnach in diesem Patientenkollektiv signifikant reduziert, besonders deutlich bei Patienten unter Behandlung mit Kortikosteroiden und Patienten, die älter als 50 Jahre sind. Die Impfung führte jedoch zu keiner klinischen Verschlechterung des SLE (Abu-Shakra et al., 2007). Eine kontrollierte, randomisierte Studie beschäftigte sich mit der Influenza-Impfung bei der Wegener Granulomatose. Es fanden sich zu gesunden Kontrollen vergleichbare Sero-protektionsraten, keine klinische Verschlechterung sowie kein Anstieg der krankheitsassoziierten antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörper-Titer (ANCA) (Holvast et al., 2009a). Die Generierung von Autoantikörpern nach einer Influenza-Impfung beim SLE

wurde beschrieben, jedoch als klinisch nicht signifikant gewertet (Abu-Shakra et al., 2002).

Es sind Einzelfallberichte, die neben einer Krankheitsexazerbation auch die Auslösung einer Autoimmunerkrankung in Verbindung mit einer Impfung beschrieben haben. Insbesondere eine Assoziation zwischen Impfungen und der Multiplen Sklerose, dem Diabetes mellitus Typ I, der rheumatoiden Arthritis oder dem systemischen Lupus erythematoses werden diskutiert (Salemi und D'Amelio, 2010b). Ein Zusammenhang gilt beispielsweise als gesichert im Hinblick auf die Schweine-Influenza-Impfung und der Entwicklung eines Guillain-Barré-Syndroms (Schonberger et al., 1979) sowie bei der idiopathischen Thrombozytopenie und der Masern-Mumps-Röteln-Impfung (Chen et al., 2001). In den übrigen Fällen ist die Datenlage nicht ausreichend, um eine Evidenz für eine Assoziation zu belegen (Wraith et al., 2003).

Beyer et al. fanden in einer Meta-Analyse keine Hinweise auf ein schlechteres Ansprechen durch die jährliche Wiederholung der Impfung (Beyer et al., 1999).

2.3 Ableitung der Fragestellung, Studiengründe und Ziele

Häufig stellen MG-Patienten die Frage nach einer Influenza-Impfung, da diese durch die medikamentöse Immunsuppression unter dem besonderen Risiko für eine Influenza-infektion stehen. Eine Impfung wird jedoch auch, durch Triggerung des Immunsystems verdächtigt, eine Verschlechterung von Autoimmunerkrankungen herbeizuführen. Auch das Auftreten einer MG im Zusammenhang mit der Hepatitis-B-Impfung ist beschrieben worden (Biron et al., 1988). Im Allgemeinen wird den Patienten von Lebendimpfungen abgeraten (Schumm, 2000). Es gibt bisher keine prospektiven, kontrollierten Daten, die sich mit den Auswirkungen von Impfungen auf den Verlauf einer MG befassen. Eine retrospektive Arbeit untersuchte das Vorkommen Myasthenie-assoziiierter Krankenhauseinweisungen (n=3667; 513 Einweisungen innerhalb von 42 Wochen nach einer Influenza-Impfung) im zeitlichen Zusammenhang mit einer Influenza-Impfung in der Region Ontario (Kanada). Es fand sich hierbei weder eine jahreszeitliche Häufung der Krankenhauseinweisungen noch eine Häufung in den ersten sechs Wochen nach einer Impfung (relative Inzidenz 0,84 gegenüber einem Kontrollin-

tervall; 95%-KI 0,65-1,09). Die Autoren schlussfolgern hieraus, dass die Impfung bei MG-Patienten sicher ist (Zinman et al., 2009).

Die Influenza-Impfung wird als gut verträglich angesehen und schwerwiegende Nebenwirkungen treten in der Allgemeinbevölkerung selten auf. Daher bietet sich gerade diese Impfung an, um beispielhaft die Auswirkungen von Impfstoffen auf die MG zu untersuchen.

Die pathognomonischen AChR-Ak sind nicht nur ursächlich für die Krankheitsentstehung der MG, sie korrelieren im Verlauf auch intraindividuell mit dem klinischen Schweregrad der Erkrankung (Besinger et al., 1983). Die Änderungen der AChR-Ak gehen den klinischen Änderungen meist um zwei bis vier Monate voraus (Schumm et al., 1984). Aus diesen Gründen wurde als primärer Endpunkt zur Detektion einer Änderung der klinischen Symptomatik die intraindividuelle relative Veränderung in Prozent des Ausgangs-AChR-Ak-Titers bei Studieneinschluss über einen Beobachtungszeitraum von drei Monaten gewählt. Des Weiteren sollte als sekundäre Endpunkte der klinische Schweregrad (Erhebung eines Myasthenie-Scores und Änderung der Medikamentendosis) quantifiziert werden und zudem der Impferfolg durch Anstieg der anti-Influenza-Ak-Titer drei Wochen nach der Impfung nachgewiesen werden.

Um die Möglichkeit systematischer Fehler und anderer Einflussfaktoren gering zu halten, wurde die Studie Placebo-kontrolliert und doppelblind durchgeführt. Die Zuteilung der Studienteilnehmer zur Impfstoff- und Placebogruppe erfolgte nach dem Zufallsprinzip durch balancierte Randomisierung.

3. Patienten, Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Die Arbeit wurde als monozentrische, prospektive, doppelblinde, Plazebo-kontrollierte, randomisierte Studie durchgeführt. Das Studiendesign ist konfirmatorisch im Hinblick auf die relative Veränderung des AChR-Ak-Titers, um die Frage der Auswirkung auf den klinischen Verlauf bei Patienten mit einer AChR-Ak-positiven MG nach einer Influenza-Schutzimpfung zu beantworten.

Die Studie wurde nach §40 des Arzneimittelgesetzes durchgeführt (BGBI. I, 2005).

3.1.1 Endpunkte

Da AChR-Ak pathognomonisch für eine MG sind und einer Verschlechterung der klinischen Symptomatik intraindividuell ein Anstieg des Titers vorausgeht (Besinger et al., 1983), wurde als primärer Endpunkt die relative Veränderung des AChR-Ak-Titers in einem Beobachtungszeitraum von drei Monaten nach Applikation des Influenza-Impfstoffes gewählt. Sekundäre Endpunkte waren der Nachweis eines Impferfolges durch Bestimmung des Anti-Influenza-Antikörper-Titers drei Wochen nach der Impfung im Vergleich zum Antikörper-Titer vor der Impfung sowie die Verschlechterung der klinischen Symptomatik. Diese sollte durch Erhebung von Anamnese und dem Auftreten unerwünschter Ereignisse, Änderung der Medikamenten-Dosis (Pyridostigmin und Immunsuppressiva) und des Myasthenie-Scores nach Besinger und Toyka (mBS) detektiert werden.

3.1.2 Randomisierung und Verblindung

Die Randomisierung erfolgte durch das Koordinierungszentrum für klinische Studien (KKS) der Philipps-Universität Marburg während des Screenings.

Zur Gewährleistung einer Verblindung des Prüfarztes wurde eine examinierte Krankenschwester (im Folgenden „Impfchwester“) mit den Aufgaben Erhalt und Dokumentation der zugeteilten Studienmedikation sowie Vorbereitung und Applikation der Studienmedikation betraut.

Der Ablauf der Randomisierung und Verblindung ist in Abbildung 2 dargestellt.

Potentielle Studienteilnehmer, welche ärztlich über die Studie aufgeklärt wurden und eine schriftliche Einverständniserklärung unterschrieben (1) sowie die Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten (2), wurden vom Prüfarzt mit Initialen, fortlaufender Patientennummer, Geburtsdatum und der derzeitigen Therapie (Immunsuppression ja oder nein) per Telefax in einem standardisierten Formular (s. Anhang I) dem KKS gemeldet (3). Dort wurde die Randomisierung so durchgeführt, dass sich die Verum- und Placebo-Gruppe in Bezug auf das Merkmal „immunsuppressive Therapie ja/nein“ entsprechen (balancierte Randomisierung, 4). Die Chance für die Zuteilung in die Verum-Gruppe war somit 50%. Die Information über die Therapiezuweisung erfolgte über einen Mitarbeiter des KKS telefonisch an die Impfschwester (5). Zeitgleich versendete das KKS ein Bestätigungsformular (s. Anhang I) per Fax ohne zugeteilte Therapie (6) und die Impfschwester vervollständigte danach das Bestätigungsformular mit der ihr mitgeteilten Therapie und sendete dieses an das KKS zurück (7). Dies diente der Vermeidung von Fehlern bei der Vermittlung des Randomisierungsergebnisses. Die Injektion der Studienmedikation durch die Impfschwester erfolgte erst, nachdem dieses Procedere vollständig durchgeführt wurde. Der Prüfarzt wurde durch ein Fax vom KKS über die erfolgreich durchgeführte Randomisierung allerdings ohne Mitteilung der zugeteilten Studientherapie informiert (8).

Der Impfstoff Mutagrip® wurde in handelsüblichen Glas-Fertigspritzen ohne Injektionskanüle in der Apotheke gekauft (s. Kapitel 3.2.1). Eine Umetikettierung zur Deklaration als Studienmedikation mit zugehörigen Daten von Sponsor, Prüfplan und Prüfpräparat erfolgte in der Klinikumsapotheke der Philipps-Universität Marburg. Die Lagerung im Prüfzentrum wurde gemäß der Vorschriften der Fachinformation in einem abschließbaren Kühlschrank mit regelmäßiger Aufzeichnung der Temperatur durchgeführt.

Da der Impfstoff eine wasserklare Flüssigkeit ist, konnte als Placebo 0,9%-ige Natriumchloridlösung verwendet werden (s. Kapitel 3.2.2). Die entsprechenden Ampullen für Injektionszwecke wurden ebenfalls von der Apotheke gemäß den gesetzlichen Bestimmungen umetikettiert. Es standen keine gleichaussehenden Fertigspritzen für das Placebo zur Verfügung, deshalb konnte das Placebo nur in handelsüblichen Plastikspritzen (BD Plastipak, 1mL Spritze, REF 300013, CE0318) abgefüllt werden. Da bei einem Umfüllen des Impfstoffes in eine andere Spritze zu viel Impfstoff verworfen werden

müsste (Rückstände in der ursprünglichen Spritze, Rückstände in der Kanüle), musste der Impfstoff in den ursprünglichen Fertigspritzen appliziert werden. Es bestand deshalb die Möglichkeit, dass die Studienteilnehmer die ihnen verabreichte Therapie erkennen. Um dies zu vermeiden wurde den Studienteilnehmern vor der Injektion eine Flugzeugschlafmaske aufgesetzt, die es den Teilnehmern nicht ermöglichte, das Aussehen oder den Inhalt der Spritze zu sehen. Die Studienmedikation wurde in einem anderen Raum als dem, in dem die Impfung vorgenommen wurde, von der Impfschwester vorbereitet. Das Studienmedikament wurde erst kurz vor der Impfung auf einem Tablett, das von einem Tuch bedeckt war, von der Impfschwester in den Raum gebracht (9).

Die Studie war doppelt-verblindet angelegt. Dies wurde durch folgende weitere Maßnahmen gewährleistet:

Die Impfung mit Influenza-Impfstoff bzw. Plazebo wurde ausschließlich von der Impfschwester durchgeführt. Diese war für den Empfang des Randomisierungsergebnisses vom KKS, die eigentliche Impfung (10), die Dokumentation der evtl. auftretenden unmittelbaren Impfreaktion und die Erstellung eines Notfallumschlages (11) für die Krankenakte zuständig. In diesem Notfallumschlag wurde von der Impfschwester die durchgeführte Therapie mit der zugehörigen Chargennummer des verwendeten Impfstoffes auf einem dafür vorgesehenen Formblatt (s. Anhang II) dokumentiert. Der Umschlag wurde sorgfältig verschlossen und der Patientenakte beigelegt. Im Falle einer notwendigen Entblindung konnte durch diesen Umschlag die Studienmedikation festgestellt werden.

Der für die Erhebung der sekundären Endpunkte verantwortliche ärztliche Untersucher (klinische Untersuchung mit Erhebung des mBS, Durchführung der Zentrums- und Telefonvisits, Blutentnahme) war weder bei der Injektion noch bei der Vorbereitung der Studienmedikation anwesend, so dass die Verblindung auch von Seiten der Untersucher gewährleistet werden konnte („rater-blinded“).

Die ärztlichen Untersucher für den primären Endpunkt (AChR-Ak-Titer, PD Dr. Blaes und Mitarbeiter) und für die Auswertung der anti-Influenza-Ak (Dr. Eickmann und Mitarbeiter) waren vollständig verblindet.

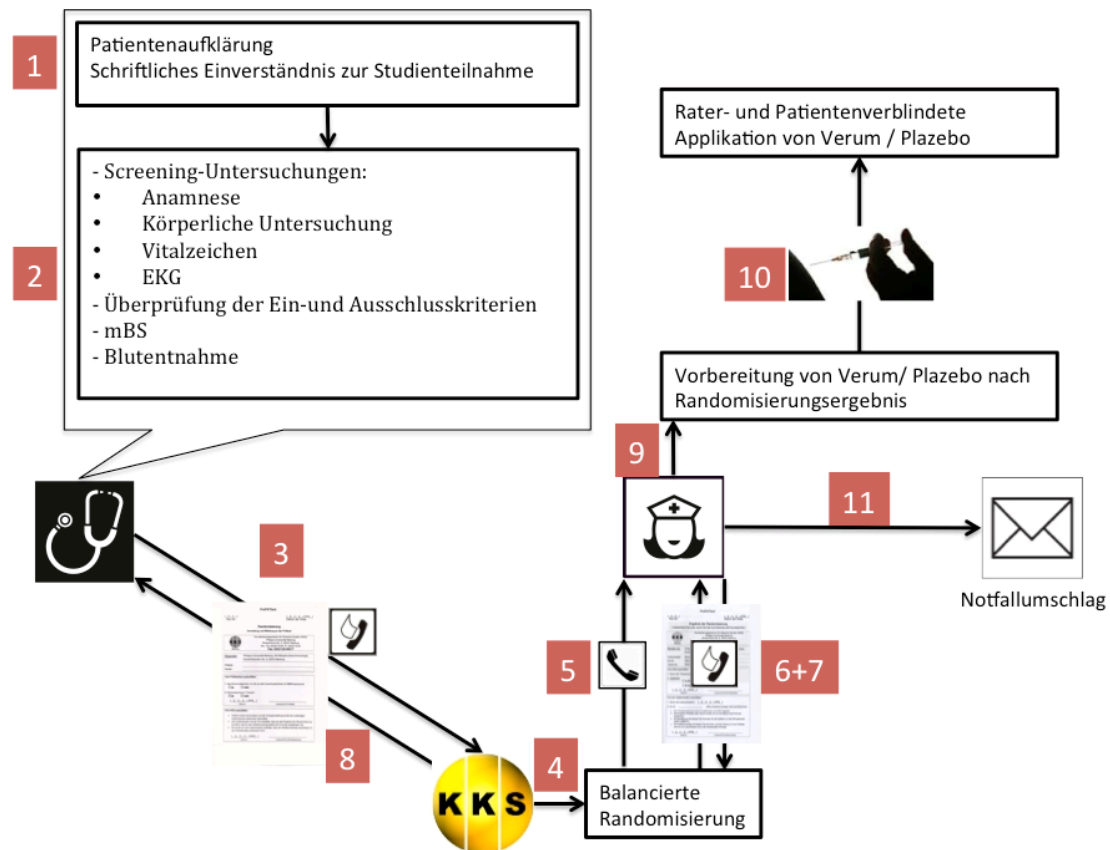


Abbildung 2: Ablauf von Randomisierung (Schritte 3-8) und Verblindung beim Screening / Visit 1. Weitere Ausführungen im Text.

3.2 Studienmedikation

3.2.1 Influenza-Impfstoff

3.2.1.1 Allgemeines

Bei der in der Studie verwendeten Influenza-Impfung handelt es sich um einen trivalenten Totimpfstoff. Abhängig von den jährlichen Empfehlungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wird die Impfstoffzusammensetzung an die in der kommenden Impfsaison voraussichtlich zirkulierenden Erreger-Subtypen angepasst. Hierbei werden jeweils 15 Mikrogramm gesplattene und inaktivierte Influenza-A-Viren (H1N1 sowie H3N2) und Influenza-B-Viren in 0,5 Milliliter Suspensionslösung gebracht.

Die verwendete Studienmedikation ist der handelsübliche Grippeimpfstoff Mutagrip® der Firma Sanofi Pasteur MSD GmbH. Da die Studie in drei aufeinanderfolgenden

Impfsaisons durchgeführt wurde, wurden folgende Impfstoffzusammensetzungen verwendet:

2006/2007 A/New Caledonia/20/99 (H1N1)
 A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)
 B/Malaysia/2506/2004
 2007/2008 A/Solomon Islands/3/2006 (H1N1)
 A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)
 B/Malaysia/2506/2004
 2008/2009 A/Brisbane/59/2007 (H1N1)
 A/Brisbane/10/2007 (H3N2)
 B/Florida/4/2006

(Sanofi Pasteur MSD GmbH)

3.2.1.2 Anwendung

Die Fertigspritze mit 0,5 ml Impfstoff wird vor Gebrauch gut geschüttelt. Lösungen, die Schwebeteilchen enthalten werden verworfen. Nach lokaler Desinfektion erfolgt die intramuskuläre Injektion in den Deltamuskel durch die Impfschwester.

3.2.1.3 Verträglichkeit

Im Vergleich zu anderen Impfstoffen wird die Influenza-Impfung als gut verträglich angesehen (Mandell et al., 2010). Plazebo-kontrollierte Studien haben gezeigt, dass lokale Symptome wie Schmerzen, Rötung und Spannungsgefühl an der Einstichstelle mehr als doppelt so häufig bei geimpften Personen im Vergleich zu mit Plazebo geimpften Personen auftraten. An systemischen Symptomen traten bei gesunden geimpften Probanden lediglich Myalgien signifikant häufiger auf als in den Vergleichsgruppen. Dennoch waren insgesamt 1,3-mal häufiger systemische Effekte wie allgemeines Unwohlsein, Übelkeit, Fieber, Arthralgien, Kopfschmerzen oder Hautausschlag anzutreffen (Jefferson et al., 2007). Insgesamt werden die Häufigkeit lokaler Symptome mit etwa 60% und die Häufigkeit mindestens eines systemischen Symptoms mit etwa 35% angegeben (Nichol et al., 1996).

Eine seltene Nebenwirkung stellt das sogenannte „Oculo-Respiratory-Syndrom“ dar. Dies trat gehäuft in der Impfsaison 2000/2001 in Kanada auf. Charakteristisch sind Konjunktivitis, Gesichtsschwellung und respiratorische Beschwerden wie Broncho-

spasmus und Atemnot, die zwei bis 24 Stunden nach einer Influenza-Impfung beginnen und meist bereits nach 48 Stunden nicht mehr nachweisbar sind (De Serres et al., 2003). Eine weitere sehr seltene unerwünschte Nebenwirkung ist das Guillain-Barré-Syndrom (GBS). Unter einer Millionen geimpfter Personen tritt schätzungsweise in ein bis zwei Fällen ein GBS innerhalb von sechs Wochen nach der Impfung auf (Fiore et al., 2009a). Eine Häufung von GBS konnte während der Schweine-Influenza-Epidemie 1976 in den USA festgestellt werden. Aufgrund einer Schweinegrippeepidemie wurde die Herstellung eines Impfstoffes gegen ein H1N1-Virus vom Stamm A/New Jersey initiiert. Knapp 40 Millionen US-Amerikaner wurden mit diesem Impfstoff geimpft. In der Folge kam es zu einem Anstieg der Inzidenz des GBS. Insgesamt 532 impfassozierte Fälle wurden beschrieben. Das Risiko nach dieser speziellen Impfung in der damaligen Zusammensetzung am GBS zu erkranken wird auf 1 zu 100.000 geschätzt (Schonberger et al., 1979).

3.2.1.4 Kontraindikationen

Als Kontraindikation wird in der Fachinformation von Mutagrip® eine Überempfindlichkeit gegen Inhaltsstoffe der Impfung angegeben. Dies ist in erster Linie Hühnereierweiß, da bei der Herstellung des Impfstoffes die Virusvermehrung in bebrüteten Hühnereiern erfolgt. Weitere Produktionsrückstände, die prinzipiell beim Geimpften zu einer Überempfindlichkeitsreaktion führen können sind Neomycin, Formaldehyd und Octoxinol 9. Des Weiteren sollte die zu impfende Person zum Zeitpunkt der Impfung nicht an einer akuten Infektion oder fieberhaften Erkrankung leiden (Sanofi Pasteur MSD GmbH).

3.2.2 Plazebo

Die randomisierte Gabe des Plazebo erfolgte durch intramuskuläre Injektion von steriler isotonischer Kochsalzlösung der Firma Fresenius Kabi. Die Dosis wurde in den Musculus deltoideus appliziert. Dafür wurden einzeln, steril abgepackte 5 Milliliter 0,9-prozentige Natrium-Chlorid-Lösung enthaltende Plastikampullen von der Impfschwester geöffnet und in eine Injektionsspritze umgefüllt.

Die sehr geringe Menge an Injektionslösung führt erfahrungsgemäß zu keinen spezifischen Nebenwirkungen. Unerwünschte Ereignisse wie Hämatombildung, Schmerzen und Bewegungseinschränkung am Oberarm sind in der Regel durch den Stich selbst und

nicht durch das Plazebo zu erklären und dauern in der Regel nicht länger als einige Stunden an.

3.3 Studienpopulation

Die Rekrutierung der an MG erkrankten Patienten erfolgte über den Patientenstamm der neuroimmunologischen Ambulanz der AG Klinische Neuroimmunologie der Philipps-Universität am Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Marburg. Erklärte sich ein Patient zur Teilnahme bereit und erfüllte die telefonisch zu testenden Ein- und Ausschlusskriterien, wurde ein individueller Screening-Termin im Prüfzentrum vereinbart.

Zudem informierte ein Artikel in der Mitgliederzeitung und auf der Website der Deutschen Myasthenie Gesellschaft (DMG) die circa 3500 Mitglieder über die Studie und Teilnahmemöglichkeiten (DMG-Online).

Außerdem wurden die Ambulanzärztinnen und –Ärzte auswärtiger Neurologischer Kliniken über die Möglichkeit einer Teilnahme ihrer Patienten an der ProPATient-Studie informiert. Interessierte Patientinnen und Patienten wurden vom Marburger Studienteam telefonisch kontaktiert.

3.3.1 Einschlusskriterien

Vor Beginn der Studie wurden folgende Einschlusskriterien definiert:

- schriftliche Einverständniserklärung des Patienten („informed consent“),
- Alter mindestens 18 und höchstens 80 Jahre,
- Diagnose einer MG nach Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2005),
- positive AChR-Ak im Serum,
- klinisch stabile Myasthenia gravis (unter stabiler Medikation) seit mindestens 4 Monaten vor Studieneinschluss.

3.3.2 Ausschlusskriterien

Zudem wurden folgende Ausschlusskriterien vor Beginn der Studie aufgestellt:

- jede Impfung innerhalb der letzten 9 Monate vor Studieneinschluss,
- schwere Herzerkrankung in der Anamnese,

- höhergradige Herzrhythmusstörungen im Screening-EKG,
- maligne Tumorerkrankung in der Anamnese,
- klinische Zeichen für eine akute erregerbedingte Entzündung bei Screening/ Visit 1,
- bekannte Allergie gegen Hühnereiweiß,
- schwere Impfreaktion bei einer vorangegangenen Impfung,
- sonstige Gegenanzeigen gemäß Fachinformation Mutagrip ®,
- Teilnahme an einer anderen klinischen Studie oder zu kurze Frist nach Beendigung einer vorangegangenen Studie.

Vor Beginn der Studie wurden die Teilnehmer ausführlich über die Absicht und den konkreten Ablauf der Studie, beschriebene Nebenwirkungen der Influenzaimpfung, die Möglichkeit der zufälligen Zuteilung zur Verum- oder Plazebogruppe und den fehlenden wissenschaftlichen Nachweis eines Nutzens bzw. Risikos einer Influenza-Impfung auf den Verlauf einer MG sowie in Hinblick auf die Vertraulichkeit der Studiendaten aufgeklärt. Es wurden eine Patienteninformation, eine Einverständniserklärung und die allgemeinen Versicherungsbedingungen an die Teilnehmer ausgehändigt.

Vor Beginn der Studie wurden die Teilnehmer von einem Prüfarzt in allgemeinverständlicher Sprache über die Studie aufgeklärt. Insbesondere wurde dem Patienten mitgeteilt, dass er, gemäß der Deklaration von Helsinki, jederzeit, ohne Nennung von Gründen die Studie abbrechen kann, ohne dass ihm daraus Nachteile entstehen (WMA and Association, 1997). Dem Teilnehmer wurde ausreichend Bedenkzeit vor Einwilligung in die Studie gegeben.

3.4 Studienablauf

Insgesamt wurde jeder Studienteilnehmer über einen Zeitraum von 12 Wochen (\pm 3 Tage) nach der Impfung beobachtet. Dies wurde durch vier Studienvisits (Visit 2 bis Visit 5) nach dem sogenannten Screening (Visit 1 am Tag der Randomisierung) erreicht. Hierbei erfolgten Visit 2 und 4 im Rahmen eines Telefongespräches eine Woche beziehungsweise acht Wochen nach Visit 1. Termine im Prüfbüro wurden als Visit 3

und 5 nach drei- respektive zwölf Wochen durchgeführt. Einen Überblick über Ablauf und Aktivitäten gibt Tabelle 2.

	Screening/ Visit 1	Visit 2	Visit 3	Visit 4	Visit 5
Zeitpunkt	Woche 0	Woche 1 (± 3 Tage)	Woche 3 (± 3 Tage)	Woche 8 (± 3 Tage)	Woche 12 (± 3 Tage)
im Prüfzentrum ☒ / Telefonvisit ①	☒	①	☒	①	☒
Einverständniserklärung	◆				
Körperliche Untersuchung	◆				
EKG	◆				
Ein-/Ausschlusskriterien	◆				
Randomisierung	◆				
Impfung/Plazebo Applikation	◆				
Vitalzeichen	◆		◆		◆
Besinger score	◆		◆		◆
Blutentnahme AChR-Ak	◆		◆		◆
Blutentnahme anti-Influenza-Ak	◆		◆		
Anamnese	◆	◆	◆	◆	◆
AE/SAE	◆	◆	◆	◆	◆
Pyridostigmindosis	◆	◆	◆	◆	◆
Dosis Immunsuppressiva	◆	◆	◆	◆	◆

Tabelle 2: Auflistung aller Studienaktivitäten am Patienten. Erläuterungen im Text.

3.4.1 Screening / Visit 1

Aus Praktikabilitätsgründen erfolgten Screening und Visit 1 am gleichen Termin im Prüfzentrum.

Nach der Einwilligung in die Studie, aber noch vor der Randomisierung der Patienten, wurde ein 12-Kanal-EKG geschrieben und hinsichtlich des Ausschlusskriteriums „höhergradige Herzrhythmusstörung“ bewertet. Eine orientierende neurologische und inter-nistische Untersuchung, insbesondere die Messung der Körpertemperatur, diente dem Ausschluss einer akuten Infektionen oder einer Verschlechterung der myasthenen Symptomatik im Vergleich zu den letzten Arztbesuchen. Als weitere Vitalzeichen wur-

den Blutdruck, Puls und Atemfrequenz gemessen und das aktuelle Körpergewicht erfragt. Ein vorliegender Arztbrief sollte die Diagnose einer Myasthenia gravis sowie den positiven Antikörperstatus belegen. Des Weiteren wurden Unterform der MG, Datum der Erstdiagnose und myasthene Krisen in der Vorgeschichte dokumentiert. Bei der Abklärung weiterer Vorerkrankungen und Operationen wurden insbesondere andere Autoimmunerkrankungen sowie die Thymektomie ermittelt. Die Medikamentenanamnese wurde ausführlich, vor allem in Hinblick auf die Pyridostigmin- und Immunsuppressivadosis, durchgeführt (Anamnesebogen s. Anhang III).

Nach der Randomisierung der Patienten wurde der sogenannte Myasthenie-Score nach Besinger und Toyka (s. Abschnitt 3.5.4) zur Einschätzung des Schweregrades der Myasthenie erhoben. Anschließend erfolgte eine Blutentnahme zur Bestimmung des AChR-Ak-Titers und des anti-Influenza-Ak-Titers.

Die eigentliche Injektion des Influenza-Impfstoffes oder des Placebos wurde nach dem vorangegangenen Prozedere und erfolgter Randomisierung von der Impfschwester durchgeführt. Hierbei wurden die bereits beschriebenen Maßnahmen zur Verblindung beachtet und die Injektionsstelle fünf Minuten nach der Injektion von der Impfschwester auf kutane Impfreaktionen oder Nachblutungen inspiziert.

3.4.2 Telefonvisits (Visit 2 und 4)

Eine Woche sowie acht Wochen nach dem Screening wurden Veränderungen der myasthenen Symptomatik, der Medikamentendosis und das Auftreten von Impfreaktionen vom Untersucher telefonisch erfragt und dokumentiert. Unerwünschte Ereignisse (Adverse Events, Serious Adverse Events, s. 3.4.1) wurden ebenfalls in der Patientenakte aufgenommen.

3.4.3 Visits im Prüfbüro (Visit 3 und 5)

Bei den Besuchen der Studienteilnehmer im Prüfbüro drei und zwölf Wochen nach dem Screening, wurde neben der Anamnese und der Dokumentation unerwünschter Ereignisse den Probanden Blut entnommen, der mBS erhoben und Vitalparameter (Blutdruck, Puls, Temperatur, Gewicht, Atemfrequenz) bestimmt. Bei der Blutentnahme wurden bei Visit 3 sowohl der AChR-Ak-Titer als auch der Influenza-Ak-Titer bestimmt, wohingegen bei Visit 5 lediglich Blut zur Messung der AChR-Ak entnommen wurde.

3.4.4 Telefonische Befragung nach Studienende

Es wurde nach Beendigung und Entblindung der Studie (Befragungszeitraum März 2013 – Juli 2013) versucht, die Studienteilnehmer telefonisch zu kontaktieren. Den Patienten wurden hierbei folgende Fragen gestellt:

1. Ist bei Ihnen nach Beendigung des Untersuchungszeitraumes in der gleichen Saison, bzw. in den Folgejahren
 - a) eine nachgewiesene Influenza-Infektion und/oder
 - b) eine schwere grippeartige Erkältung mit hohem Fieber (influenza-like-illness, ILI) aufgetreten?
2. Haben Sie sich in den Folgejahren gegen Influenza impfen lassen?

3.5 Methoden bei den Studienvsits

3.5.1 Unerwünschte Ereignisse (Adverse Events, AE)

Als AE wurde jede medizinische Veränderung bei einem Studienpatienten, unabhängig von einem Kausalzusammenhang mit der Impfung, definiert. Demnach zählt also jede Veränderung der Krankheitssymptomatik oder jede zusätzlich aufgetretene Erkrankung (vor allem Erkältungssymptome) zu den unerwünschten Ereignissen. Eine Sonderform der AE stellen die schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse dar (Serious Adverse Event, SAE) (Leape, 2002).

Laut der „Verordnung über die Anwendung der Guten Klinischen Praxis bei der Durchführung von klinischen Prüfungen mit Arzneimitteln zur Anwendung am Menschen“ (GCP-Verordnung, 2004) beschreibt ein SAE jedes unerwünschte medizinische Ereignis, dass

- mit dem Tod endet, oder
- lebensbedrohlich ist, oder
- zu einem stationären Aufenthalt führt oder einen bestehenden stationären Aufenthalt verzögert, oder
- zu einer andauernden Behinderung führt, oder
- einem kongenitalen Schaden bzw. Geburtsdefekt entspricht (GCP-Verordnung, 2004).

Bei Auftreten eines SAE wurde ein von der Studie unabhängiger Arzt mit der medizinischen Bewertung des SAE beauftragt. Für den Fall, dass dieser einen Zusammenhang mit der Studienmedikation in Erwägung zieht, muss das SAE als sogenannter Verdachtsfall einer unerwarteten schwerwiegenden Nebenwirkung (Suspected unexpected serious adverse reaction, SUSAR) der zuständigen Ethikkommission und Bundesbehörde (Paul-Ehrlich-Institut) gemeldet werden.

3.5.2 Acetylcholinrezeptor-Antikörper-Testung

Bei den Studienvsits 1, 3 und 5 wurde den Patienten Blut zur Bestimmung des AChR-Ak-Titers entnommen. Die verwendeten Serumröhrchen wurden im neuroimmunologischen Labor der Universitätsklinik Marburg zunächst zentrifugiert. Anschließend wurde das Serum zu jeweils 1ml in zwei Plastikröhrchen aliquotiert, die dann bei -30° Celsius tiefgefroren und aufbewahrt wurden. Die Titerbestimmung der AChR-Ak erfolgte pseudonymisiert nach Abschluss der Studie gemäß etablierter Standardverfahren mittels Radioimmunassay im Labor von PD Dr. Franz Blaes an der Justus-Liebig-Universität in Gießen. PD Dr. Blaes und die Mitarbeiter seines Labors hatten keine Kenntnis darüber, ob der Patient mit Verum oder Plazebo geimpft wurde.

3.5.3 Influenza-Antikörper-Testung

Zur Detektion eines Impferfolges durch Anstieg der anti-Influenza-IgA und IgG drei Wochen nach der Impfung im Vergleich zum Ausgangswert wurde Patientenserum zu Visit 1 und 3 abgenommen (Murphy et al., 1973). Bei der Blutentnahme und Asservierung wurde analog zur AChR-Ak-Testung verfahren. Die Auswertung der Proben erfolgte nach Abschluss der Studie im virologischen Institut der Philipps-Universität Marburg (Prof.Dr. H.D. Klenk, Dr.rer.nat. M. Eickmann). Hier wurde ein Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Test (Novagnost®) der Firma Behring, Marburg, zum Nachweis der Antikörper verwendet. Die Patientenseren wurden auf Antikörper der Immunglobulinklassen IgA und IgG untersucht. Dr. Eickmann und die Mitarbeiter des Labors von Prof. Klenk hatten keine Kenntnis darüber, ob der Patient mit Verum oder Plazebo geimpft wurde.

3.5.4 Modifizierter Myasthenie-Score nach Besinger und Toyka (mBS)/ modifizierte QMGS-Skala

Ein Myasthenie-Score wurde in einer Arbeit von Besinger et al. entwickelt (Besinger et al., 1983). Es handelt sich dabei um einen klinischen Test zur Einschätzung des Schweregrades und Verlaufsbeobachtung der Myasthenie. In der Studie diente er als sekundärer Endpunkt und wurde bei den Teilnehmern zu den Studienvsits 1, 3 und 5 erhoben. Hierdurch sollte eine mögliche Veränderung der klinischen Symptomatik nach der Impfung detektiert werden.

Es werden verschiedene von der Erkrankung betroffene Muskelgruppen getestet (Arm- und Beinvorhalteversuch; Kopf-Hebung im Liegen; Testung der Vitalkapazität mittels Spirometer; anamnestic Hinweise auf Beschwerden beim Kauen und Schlucken; Zeit bis zum Auftreten von Doppelbildern beim Seitwärtsblick). Der zeitliche Aufwand beträgt pro Patient maximal zehn Minuten. Dem jeweils erreichten Wert des Patienten wird nach Tabelle 3 ein Punktwert zugeordnet und die Punkte am Ende der Tests addiert. Bei einem Gesamtpunktwert von 0 liegt keine myasthene Symptomatik vor. Ein Wert zwischen 1 und 7 Punkten zeigt eine geringe- ein Wert zwischen 8 und 11 Punkten eine mäßige myasthene Symptomatik an. Von einer schweren generalisierten Myasthenie kann ab einem Scorewert von ≥ 12 Punkten gesprochen werden.

Zur Einschätzung des Verlaufs der klinischen Symptomatik wurden die Gesamtpunktzahl durch die Anzahl der durchgeführten Tests (in der Regel $n=6$) dividiert. Bei Reduktion des Wertes im Verlauf um mehr als 0.3 Punkte wird von einer klinischen Verbesserung, bei Anstieg des Wertes um ebenfalls mindestens 0.3 Punkte von einer klinischen Verschlechterung gesprochen (Hart et al., 2009).

	0 Punkte	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte
Arm vorhalten 90°, stehend	> 180 sec	60 – 180 sec	10 – 60 sec	< 10 sec
Bein vorhalten 45°, liegend	> 100 sec	30 – 100 sec	5 – 30 sec	< 5 sec
Kopf heben 45°, liegend	> 90 sec	30 – 90 sec	5 – 30 sec	< 5 sec
Vitalkapazität	Männer: > 4,1 L Frauen: > 3,1 L	2,5 – 4,0 L 2,0 – 3,0 L	1,5 – 2,5 L 1,2 – 2,0 L	< 1,5 L < 1,2 L
Kauen, Schlucken	Normal	Ermüdung	Verschlucken	Nicht möglich
Doppelbilder bei Seitwärts-blick	> 60 sec	10 – 60 sec	0 – 10 sec	Spontan
Gesamtscore	0	1-7	8-11	≥12
Myasthene Symptomatik	keine	gering	mäßig	schwer

Tabelle 3: Modifizierter Myasthenie-Score nach Besinger und Toyka. Erläuterungen siehe Text.

3.5.5 Einteilung der Myasthenia gravis

Die Task Force of the Medical Scientific advisory Board of the Myasthenia Gravis Foundation of America (MGFA) veröffentlichte im Jahr 2000 eine für klinische, prospektive Studien gültige Klassifikation, um eine Standardisierung der Datenerfassung und Berichterstattung klinischer Daten zu erreichen (Jaretzki et al., 2000). Die MGFA-Klassifikation kann als Modifikation der zuvor häufig eingesetzten Osserman-Kriterien angesehen werden (Osserman und Genkins, 1971). Die Klassifikation gibt zum einen über den Schweregrad und zum anderen über das Befallsmuster der Erkrankung Auskunft. Die Einteilung erfolgt in fünf Klassen: Klasse I beinhaltet alle rein okulären Verlaufsformen. Die Klassen II, III und IV beschreiben eine leichte, moderate beziehungsweise schwere, generalisierte Affektion der übrigen, nicht okulären Muskulatur. In diesen Gruppen wird zusätzlich die Unterscheidung gemacht, ob das Beschwerdebild überwiegend die Extremitäten- und axiale Muskulatur (Subgruppe A) oder vorherr-

schend die oropharyngeale und Atemmuskulatur betrifft (Subgruppe B). Klasse V ist definiert durch Intubationsbedürftigkeit des Patienten (Jaretzki et al., 2000).

Die Einteilung der Studienteilnehmer erfolgte durch Bestimmung des mBS. Wie in Kapitel 2.4.4 beschrieben, lässt sich anhand des Score-Gesamtwertes der klinische Schweregrad in leichte, mäßige und schwere Myasthenie bestimmen. Hierbei spielt es zur Subgruppen-Einteilung in die Klassen II bis IV eine Rolle, in welchen der einzelnen Tests der Patient beeinträchtigt ist. So lässt sich beispielsweise ein Patient mit deutlicher Minderung der Vitalkapazität und Einschränkungen beim Kauen und Schlucken mit einem Gesamtscore zwischen 8 und 11 Punkten der Klasse IIIb zuordnen.

Eine weitere in der Studie verwendete Einteilung geht auf die Arbeiten von Compston et al. zurück (Compston et al., 1980). Sie unterteilt das seropositive Patientenkollektiv in early-onset (EOMG), late-onset (LOMG), okuläre (OMG) und Thymom-assoziierte Myasthenia gravis (TOMG). Dies hat vor allem ätiologische und epidemiologische Gründe, da die Unterformen sich unter anderem bezüglich Geschlechterverteilung, MHC-Assoziation und Thymusveränderungen unterscheiden (vgl. Kapitel 2.1.2). Die Meinungen einiger Experten zur Bestimmung eines Lebensalters, das die Schwelle zwischen Frühform und Spätform markiert, sind uneinheitlich (Somnier et al., 1991). In der Studie wurden Patienten, deren Erstmanifestation der Myasthenie vor dem 45. Lebensjahr liegt, der EOMG-Gruppe zugeordnet (Tackenberg et al., 2009). Patienten, die zur Thymom-assoziierten MG zählen, weisen in der Anamnese einen epithelialen Thymustumor auf. Patienten mit einer okulären Myasthenie entsprechen der MGFA-Klasse I.

Des Weiteren wurde beim Screening der Therapie-Status erhoben. Hier ist es vor allem wichtig zwischen Patienten mit oder ohne immunsuppressive Therapie zu unterscheiden. Es wurde zur Gruppierung des Teilnehmerkollektives der von der MGFA empfohlene „Therapy status“ verwendet. Hiernach wurden die Patienten nach ihrer anfänglichen Therapie in die Gruppen

- NT („no therapy“),
- IM („Immunosuppression therapy other than prednisone“),
- PR („Prednisone“),
- CH („Cholinesterase inhibitors“),

- IGc (IVIg therapy chronic) und
- Kombinationen aus diesen

eingeteilt (Jaretzki et al., 2000).

3.5.6 Medikamentenänderung

Bei jedem Visit wurden die Studienteilnehmer nach möglichen Änderungen in der Medikation befragt. Der Acetylcholinesterase-Hemmer Pyridostigmin wird von der Mehrzahl der Myasthenia gravis-Erkrankten mehrmals täglich eingenommen und am individuellen Bedarf erhöht oder reduziert. Durch Hemmung des Acetylcholinabbaus wird die Symptomatik verbessert. Die Wirkung der nicht-retardierten Form erfolgt nach 20 bis 30 Minuten (Juel und Massey, 2007). Eine Erhöhung der Einnahmedosis kann somit eine Verschlechterung der klinischen Symptomatik anzeigen, ohne dass der Patient über eine subjektive Exazerbation klagt. Auch umgekehrt kann eine Reduktion der Dosis eine klinische Verschlechterung bewirken.

Zudem werden fast immer Immunsuppressiva wie Kortikosteroide und Azathioprin zur Behandlung einer generalisierten MG eingesetzt. Patienten unter immunsuppressiver Therapie sind im Allgemeinen anfälliger für Infekte, die wiederum bei der MG Auslöser für Verschlechterungen der Symptomatik sein können.

Einige Medikamente, die auf die Neurotransmission an der neuromuskulären Endplatte wirken, haben das Potential, die Myasthenie negativ zu beeinflussen. Beispiele hierfür sind in erster Linie Muskelrelaxantien vom Curare-Typ, Succinylcholin, Benzodiazepine und diverse Antikonvulsiva. Auch häufig verwendete Antibiotika wie Aminoglykoside, Gyrasehemmer, Makrolide und Ketolide können eine Myasthenie verschlechtern. Des Weiteren wird Azathioprin durch Kombination mit dem Xanthinoxidase-Hemmer Allopurinol vermindert abgebaut und kann somit zu Myelosuppression und weiteren gravierenden Nebenwirkungen führen (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2012).

3.6 Statistische Methoden

3.6.1 Studienpopulationen

Die statistische Analyse wird auf dem Boden unterschiedlicher Studienpopulationen (siehe Tabelle 4) durchgeführt.

Studienpopulation	Definition
Full analysis set (FS)	Alle Studienpatienten (Verum- und Plazebogruppe)
Intent-to-treat (ITT)	Alle randomisierten Patienten
Per-protocol (PP)	Alle Patienten der ITT Population, die die Studie gemäß Protokoll, d. h. ohne relevante Protokollverletzung abgeschlossen haben

Tabelle 4

3.6.2 Endpunkte

Primärer Endpunkt der Studie ist die intraindividuelle, relative Veränderung in % des AChR-Ak-Titers zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses über einen Beobachtungszeitraum von 3 Monaten bei klinisch stabilen Patienten, die an einer MG erkrankt sind.

Der Endpunkt wird gemäß

$$\Delta = \frac{\text{AChR-Ak-Titer Visit 5}}{\text{AChR-Ak-Titer Screening}} - 1$$

bestimmt.

Als sekundäre Endpunkte werden folgende Parameter festgehalten:

- Impferfolg gemessen am relativen Anstieg des anti-Influenza Ig Titers (mittlerer Titeranstieg, $MFI = \frac{ELISA-Titer_{visit\ 3}}{ELISA-Titer_{visit\ 1}}$),
- Notwendigkeit zur Veränderung der Pyridostigminosis und/oder der Dosis von Immunsuppressiva wegen Verschlechterung der klinische Symptomatik,
- Absolute Veränderung des modifizierten Myasthenie-Scores nach Besinger und Toyka zur Quantifizierung des klinischen Verlaufs ($\Delta = \text{mBS Visit 3 bzw. 5} - \text{mBS Screening}$).

3.6.3 Hypothesen

Vor Studienbeginn wurde die folgende Nullhypothese H_0 und die Alternativhypothese H_1 formuliert:

$$H_0: \Delta \text{AChR-Ak Titer}_{\text{placebo}} = \Delta \text{AChR-Ak Titer}_{\text{verum}}$$

$$H_1: \Delta \text{AChR-Ak Titer}_{\text{placebo}} \neq \Delta \text{AChR-Ak Titer}_{\text{verum}}$$

Das Wirksamkeitsmaß δ ist definiert als

$$\delta = \Delta \text{AChR-Ak Titer}_{\text{placebo}} - \Delta \text{AChR-Ak Titer}_{\text{verum}}.$$

Falls $\delta < 0$ ist, muss von einem positiven Effekt der Impfung auf den AChR-Ak Titer ausgegangen werden. Dann ist zu überlegen, ob eine Influenzaschutzimpfung ein Risikofaktor für MG-Patienten darstellt. Falls $\delta = 0$ oder $\delta > 0$ ist, hat die Influenzaschutzimpfung keinen oder einen negativen Einfluss auf die Veränderung im AChR-Ak Titer. Das Hypothesenpaar wird zweiseitig mittels Mann-Whitney U-Test geprüft. Signifikanzniveau ist $\alpha = 0.05$. Die Wahrscheinlichkeit für den Fehler 2. Art soll nicht mehr als $\beta = 0.1$ betragen. Die Auswertung erfolgt intention-to treat.

3.6.4 Fallzahlplanung

Die übliche Schwankungsbreite des AChR-Ak Titers ist für klinisch stabile MG-Patienten bislang nicht publiziert worden. Einzig Lefvert et al. schrieben, dass der Titer bei klinisch stabilen Patienten dazu tendiert, konstant zu bleiben (Lefvert et al., 1978). Daher liegen der folgenden Fallzahlberechnung Daten aus der Spezialambulanz für Myasthenia gravis der Arbeitsgruppe Klinische Neuroimmunologie an der Philipps-Universität Marburg zugrunde. Die Ambulanz betreute vor Studienbeginn 82 Patienten mit Myasthenia gravis. Zur Fallzahlplanung wurde an 13 klinisch stabilen Patienten der Ambulanz in einem retrospektiven Beobachtungszeitraum von sechs Monaten ($\pm 5,8$ Monate) eine natürliche Schwankung des AChR-Ak-Titers von 12,7 mit einer Standardabweichung von $\sigma = 8,7\%$ festgestellt. Der p-Wert des Kolmogorov-Smirnov Tests auf Abweichung von der Normalverteilung dieser Daten beträgt $p=0,2$ (SPSS 11.0*), was auf eine Normalverteilung verweist. Als immunologisch relevanter Unterschied zwischen den Studien-Gruppen wurde bei Studienplanung eine Änderung (δ_{rel}) der AChR-Ak Titer von 5% angenommen (Besinger et al., 1983). Zur Berechnung der Fallzahl wurde die Formel

$$n = \frac{2\sigma^2}{\delta_{\text{rel}}^2} * (z_{1-\frac{\alpha}{2}} + z_{1-\beta})^2$$

herangezogen. Hierbei ist σ die obengenannte Standardabweichung der Titerwerte bei klinisch stabilen Patienten (etwa 9%). δ_{rel} steht für die Differenz der AChR-Ak-Titer, ab der eine Relevanz angenommen wird (5%). Die Funktion $(z_{1-\frac{\alpha}{2}} + z_{1-\beta})$ berücksichtigt das Signifikanzniveau, das mit $\alpha = 0.05$ bestimmt wurde sowie den Fehler 2. Art, $\beta=0,1$. Aus Tabellen der Standardnormalverteilungen ergeben sich für den Fehler 1. Art bei zweiseitiger Signifikanztestung 1,96 und für den Fehler 2. Art 1,28 ($z_{1-\alpha/2} = z_{0,975} = 1,96$; $z_{1-\beta} = z_{0,9} = 1,28$). Durch Einsetzen dieser Werte wurde die erforderliche Fallzahl vor Studienbeginn auf circa 68 Personen pro Studiengruppe geschätzt. Unter zusätzlicher Berücksichtigung der Verwendung des U-Tests und einer geschätzten drop-out Rate von 5 %, lag die ursprünglich geplante Fallzahl je Gruppe bei $n = 80$ (beachte Kapitel 4.1 Fallzahlumplanung und Zwischenauswertung).

3.6.5 Statistik für sekundäre Endpunkte

3.6.5.1 *Anti-Influenza-Antikörper*

Zum Vergleich der Ausgangstiter mit dem Titer zu Visit 3 werden die mittels ELISA-Test ermittelten anti-Influenza-Titer zueinander ins Verhältnis gesetzt. Der Mean Fold Increase (MFI) gibt dabei den relativen Anstieg der Titerwerte an:

$$MFI = \frac{ELISA - Titer_{\text{Visit 3}}}{ELISA - Titer_{\text{Visit 1}}}$$

Die Signifikanztestung erfolgt durch den Student's T-Test für unverbundene (Vergleich zwischen den Therapiegruppen) und verbundene Stichproben (Vergleich nach Studienvisit innerhalb der Therapiegruppen) mit einem zweiseitigen Signifikanzniveau von $p < 0,05$.

Für den zur Titerbestimmung verwendeten ELISA-Test sind Grenzwerte definiert:

- Titer $\geq 11,5$ = positiv,
- Titer $>8,5$; $< 11,5$ = Werte im Graubereich,
- Titer $\leq 8,5$ = negativ.

Die einzelnen Titer werden hierdurch klassifiziert und die absoluten Zahlen vor und nach Impfung gezählt. Die Signifikanztestung erfolgt mittels Chi-Quadrat-Test mit einem zweiseitigen Signifikanzniveau von $p < 0,05$.

3.6.5.2 *Modifizierter Myasthenie-Score*

Die erhaltenen Scorewerte werden durch die Anzahl der getesteten Items (in der Regel $n=6$) zur besseren Vergleichbarkeit dividiert. Berechnet werden Mittelwerte und Standardabweichungen der Scorewerte für jede Therapiegruppe und jeden Studienvisit. Die Veränderung der Scorewerte zu Visit 3 und 5 werden als absolute Veränderungen zum Baseline-Scorewert (Visit 1) berechnet.

Zur Signifikanztestung zwischen den Gruppen wird der Mann-Whitney U-Test und zur Testung zwischen den Visits innerhalb der Therapiegruppen der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test verwendet. Das zweiseitige Signifikanzniveau wurde mit $p < 0.05$ bestimmt.

3.6.5.3 *Veränderung der Pyridostigmin- und Immunsuppressivadosis*

Es wird die Anzahl der Patienten in der Verum- und Plazebogruppe angegeben, bei denen es im Studienverlauf zu einer Änderung der Immunsuppressiva- oder Pyridostigmindosis kommt. Zur Testung auf signifikant unterschiedliche Verteilungen der Medikamentenänderungen zwischen den Therapiegruppen wird der Chi-Quadrat-Test verwendet (Signifikanzniveau $p < 0,05$; zweiseitig). In einem weiteren Schritt erfolgt eine Auflistung aller Studienteilnehmer mit Medikamentenänderung und epidemiologischen Daten sowie Titeränderungen.

3.6.6 **Datenmanagement**

Alle während der Studie erhobenen Daten und Dokumentationen wurden nach Eintragung in der Patientenakte in einen elektronischen Patientendokumentationsbogen (electronic Case Report Form, eCRF, s. Anhang V) übertragen. Die Erfassung der studienrelevanten Daten erfolgt mit dem EDC (Electronic Data Capture) System MACRO des KKS. Dem System liegt eine Oracle Datenbank zugrunde. Die Daten werden direkt über den Webbrowser in das eCRF eingegeben.

Durch die elektronische Datenerfassung konnte eine integrierte Überprüfung auf Vollständigkeit und Richtigkeit der Daten sowie eine zeitnahe Datenerfassung und ein umgehendes Reporting gewährleistet werden.

Die eingegebenen Daten wurden durch das KKS in regelmäßigen Abständen monitoriert.

3.6.7 Datenschutz

Im Rahmen der Studie erhobene Patienten- und Krankendaten wurden entsprechend den Bestimmungen des hessischen Datenschutzgesetzes (HDSB, 1999) und des Bundesdatenschutzgesetzes (BGBI. I, 2003) streng vertraulich behandelt und nur in pseudonymisierter Form im CRF dokumentiert, weitergegeben oder ausgewertet. Auf den Studierendokumenten wurde nie der vollständige Name, sondern nur die Initialen des Patienten sowie eine Patientennummer eingetragen.

Ein Prüfarztordner wurde für alle relevanten formalen Unterlagen (CV der Prüfer und Verantwortlichen, Protokoll, Ethikvotum, Genehmigung der Bundesoberbehörde, Formblätter und Umschläge der Studie (siehe Anhang, etc.) angelegt und von der Impfschwester geführt.

Die Impfschwester wird die in die Studie aufgenommenen Patienten nach Randomisierung mit ihren Patientennummern, Namen und Adressen auf einer Schlüsselliste festhalten. Mit dieser Liste gemeinsam werden auch die schriftlichen Einverständniserklärungen der Patienten im Prüfarztordner aufbewahrt. Alle Dokumente werden streng vertraulich behandelt.

Zur Kontrolle der Studienergebnisse wurde in der schriftlichen Einverständniserklärung die Erlaubnis des Teilnehmers eingeholt, die pseudonymisierten Studienunterlagen mit den Krankenakten zu vergleichen (s. Anhang Einverständniserklärung).

3.7 Ethische und rechtliche Grundlagen

3.7.1 Ethische Grundlagen

Vor Beginn der Studie lag ein positives Votum der zuständigen Ethikkommission und der zuständigen Bundesoberbehörde (hier: Paul-Ehrlich-Institut) vor (Eudra-CT-Nummer: 2006-004374-27). Alle Änderungen am Protokoll wurden über Amendments bei der Ethikkommission mit der Bitte um Ausweitung eines zuvor erteilten positiven Votums eingereicht. Sie wurden bis zu einer positiven Entscheidung der Ethikkommission nicht umgesetzt.

Die Planung und Durchführung der Studie erfolgte nach deutschem Arzneimittelgesetz (Bundesjustizministerium, 2005). Die Studie wurde nach den aktuellen ICH-GCP Re-

geln der Guten klinischen Praxis gemäß der Deklaration von Helsinki durchgeführt (GCP-Verordnung, 2004; WMA, 1997).

3.7.2 Patienteninformation und Einverständniserklärung

Den an der Studienteilnahme interessierten Patienten wurde nach telefonischer Kontaktaufnahme bzw. Konsultation im Prüfzentrum sowie durch Überweisung externer Kooperationspartner eine ausführliche Patienteninformation (s. Anhang VI) ausgehändigt. Diese klärte über Folgendes auf:

- Den wissenschaftlichen Hintergrund und die Ziele der Studie,
- den Aufbau der Studie insbesondere die Plazebo-Kontrolle und die damit verbundene Wahrscheinlichkeit von 50% den Impfstoff nicht zu erhalten,
- die Studiendurchführung mit dem voraussichtlichen Aufwand für den Patienten,
- beschriebene Nebenwirkungen und Risiken des Grippeimpfstoffes,
- Versicherungsschutz der Studienteilnehmer,
- Datenschutz und Vertraulichkeit der erhobenen Daten,
- die Freiwilligkeit der Teilnahme und die Möglichkeit die Studie jederzeit ohne Nennung von Gründen zu beenden,
- dass die Probanden während der Studie an keiner weiteren klinischen Studie teilnehmen sollten,
- die Möglichkeit der Nachimpfung nach Beendigung der Studie für Teilnehmer, die nur das Plazebo erhalten haben.

Nachdem die Patienten vom behandelnden Prüfarzt zusätzlich mündlich über die Studie aufgeklärt wurden und ihnen die Möglichkeit zu Nachfragen gegeben wurde, wurden die Studienteilnehmer gebeten, eine Einverständniserklärung zu unterschreiben, mit der sich die Patienten zur Teilnahme an der Studie bereit erklärten (s. Anhang VI).

3.7.3 Patientenversicherung

Jeder Studienpatient war im Sinne den gesetzlichen Bestimmungen des AMG §40 Abs. 1, Satz 3, Nr. 8 und Abs. 3 für die gesamte Dauer der klinischen Prüfung versichert (Bundesjustizministerium, 2005). Die abgeschlossene Versicherung (Versicherungsunternehmen: Gerling Vertrieb Deutschland GmbH, Versicherungsschein-Nr. 70-5619140-8, s. Anhang VII) deckte im Schadensfall pro versicherte Person eine Summe

von 500.000 Euro ab. Die Versicherungspolice wurde jedem Studienteilnehmer zu Studienbeginn in Kopie ausgehändigt.

4. Ergebnisse

4.1 Fallzahlumplanung und Zwischenauswertung

Aufgrund von Schwierigkeiten bei der Rekrutierung der Patienten (vgl. Kapitel 4.2) sowie der klinischen Beobachtung, dass bei keinem der Teilnehmer eine klinische Verschlechterung nach der Impfung auftrat, erschien es unethisch weiteren Patienten durch die mögliche Placebogabe eine Impfung vorzuenthalten.

Noch vor Entblindung der Gruppenzugehörigkeiten wurde eine Zwischenauswertung vorgenommen, anhand derer die maßgeblich für die Berechnung der Fallzahl bedeutsame Standardabweichung der AChR-Ak berechnet wurde (Müller und Schäfer, 2004). Diese lag mit 23% deutlich höher als zunächst angenommen (vgl. Kapitel 4.3).

Ein weiterer Faktor bei der Fallzahlberechnung stellt die als klinisch relevant einzustufende Veränderung der AChR-Ak dar. Zur Berechnung der ursprünglichen Fallzahl war die von Besinger et al. postulierte Annahme, eine Titeränderung von mehr als 5 Prozent als immunologisch relevant einzustufen, ausschlaggebend. Andere Arbeiten, welche die Ak-Änderung als Endpunkt verwendeten, gehen von größeren Differenzen aus, um eine klinische Relevanz anzuzeigen. So wurden in einer Studie von Schumm et al. Titer-Änderung um mindestens 20% (Schumm et al., 1984) und in einer Arbeit von Seybold und Lindstrom gar erst Änderungen um mehr als 50% als klinisch relevant angesehen (Seybold und Lindstrom, 1981). Daher wurden acht ausgewiesene Experten auf dem Gebiet der MG, die nicht an der Studie beteiligt waren, nach ihrer Einschätzung befragt, ab welchem AChR-Ak-Titeranstieg von einem klinisch relevanten Unterschied auszugehen ist (s. Anhang IV). Im Durchschnitt wurde dies mit 22,2% angegeben.

Eine Fallzahlumplanung analog der o.g. Formel mit nun $\sigma=22,2$ und $\delta_{\text{rel}}=23,3$ ergibt eine Fallzahl von $n=23$ Patienten pro Gruppe.

Von einer ausreichenden Aussagekraft durch die erreichte Teilnehmerzahl von $n=31$ pro Gruppe konnte daher ausgegangen werden, so dass die Studie endgültig entblindet, ausgewertet und beendet werden konnte.

4.2 Studienpopulation

Es wurden insgesamt 167 Patienten kontaktiert, wovon 94 eine Studienteilnahme ablehnten. Ein Patient entschied sich nach schriftlichem Einverständnis, aber noch vor der Randomisierung, gegen eine Studienteilnahme. Elf Patienten erfüllten die Ein- und Ausschlusskriterien nicht. Von den übrigen 62 Patienten wurden 31 der Placebogruppe und 31 der Verumgruppe zugeteilt (Intent-to-treat-Population). Alle randomisierten Patienten beendeten die Studie planmäßig und konnten in der Analyse berücksichtigt werden (Per-Protocol-Population). Die Abbildung 3 fasst als Flussdiagramm nach dem CONSORT-Statement (Consolidated Standards of Reporting Trials) den Verlauf von Rekrutierung, Randomisierung und Therapie zusammen (Moher et al., 2001).

In beiden Therapiegruppen lag das Durchschnittsalter der Studienteilnehmer bei 58 Jahren. Auch hinsichtlich der Geschlechterverteilung fand sich keine signifikante Differenz. Bei der Randomisierung wurde das Merkmal „Immunsuppression“ berücksichtigt, so dass eine balancierte Zuteilung der zwölf nicht-immunsupprimierten Patienten auf beide Therapiegruppen gewährleistet war. Wie Tabelle 5 zeigt, finden sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Patienten nach Subgruppen der Myasthenie. Im Hinblick auf alle Studienteilnehmer kommen die prozentualen Angaben den epidemiologischen Daten aus Tabelle 1 im Kapitel 1.1.3.1 nahe.

Weiterhin zeigt Tabelle 5 die Verteilung der Studienteilnehmer hinsichtlich ihres MG-Subtyps und klinischen Schweregrades. Mehr als 70% sind der MGFA-Klasse II zuzurechnen, was einer milden Symptomatik entspricht. Patienten mit schwerer MG (Klasse IV und V) nahmen nicht teil.

Zudem ist die Verteilung der Studienteilnehmer nach MGFA-Therapie-Status dargestellt (Jaretzki et al., 2000). 41,9 % der Studienteilnehmer erhielten zum Studienzeitpunkt eine Kombinationstherapie aus Cholinesterasehemmern und immunsuppressiven Medikamenten wie Kortikosteroiden, Azathioprin, Cyclosporin A und Mycophenolat-mofetil. Insgesamt fand sich auch hierbei kein signifikanter Verteilungsunterschied zwischen den Therapiegruppen.

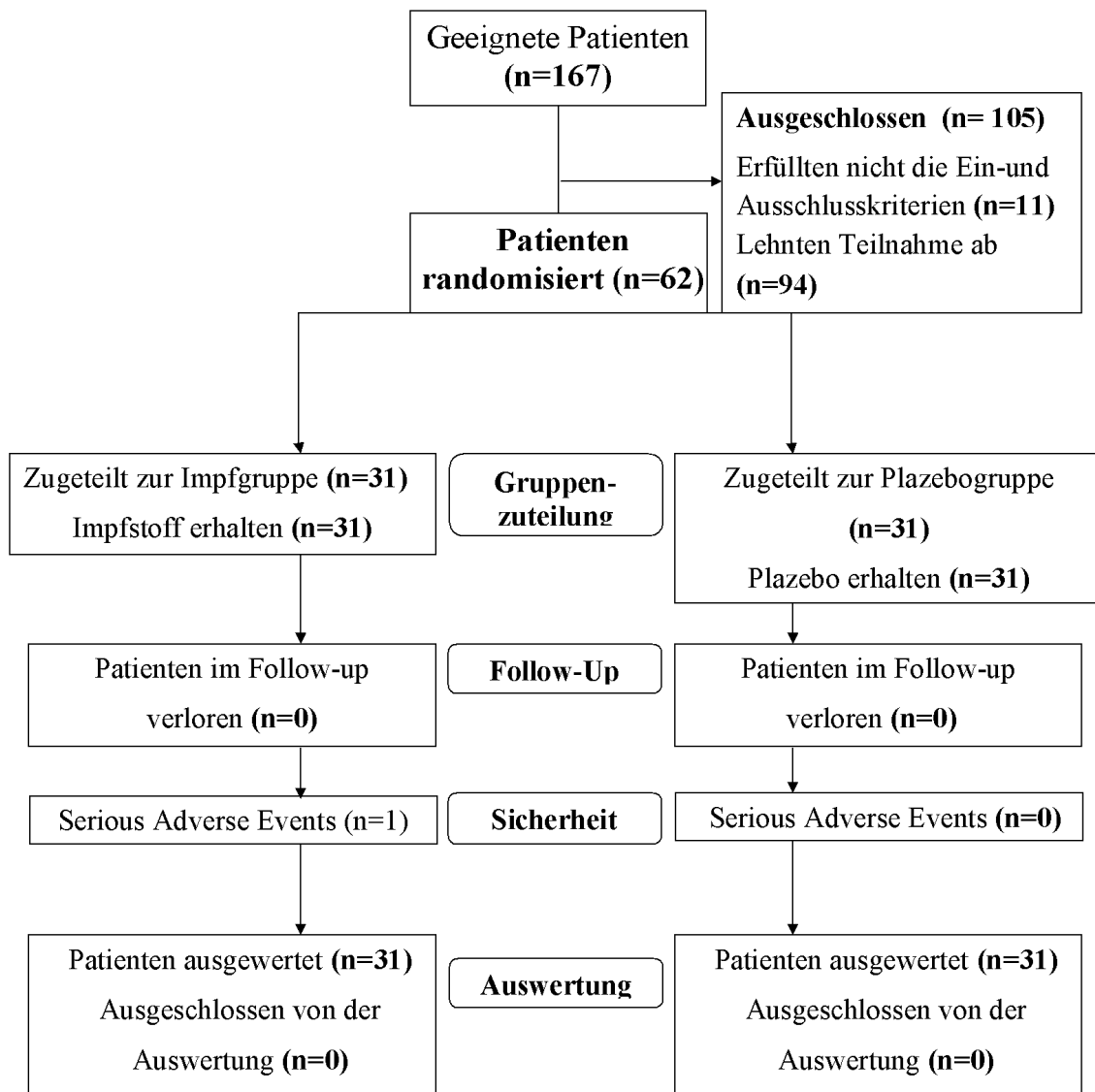


Abbildung 3: Flussdiagramm nach dem CONSORT-Statement (Moher et al., 2001).

Patientencharakteristika		Verumgruppe	Plazebogruppe	Gesamt
Alter Mittelwert (Altersspanne)		58,5 (24-77)	58,2 (30-74)	58,3 (24-77)
Alter > 60 Jahre n (%)		17 (54,8)	18 (58,1)	35 (55,6)
Männlich n (%)		18 (58,1)	14 (45,2)	32 (51,6)
Weiblich n (%)		13 (41,9)	17 (54,8)	30 (48,4)
Immunsuppression n (%)	Ja	25 (80,6)	25 (80,6)	50 (80,6)
	Nein	6 (19,4)	6 (19,4)	12 (19,4)
MG-Subtyp n (%)	OMG	7 (22,6)	2 (6,5)	9 (14,5)
	EOMG	9 (29,0)	11 (35,5)	20 (32,2)
	LOMG	11 (35,5)	16 (51,5)	27 (43,6)
	TOMG	4 (12,9)	2 (6,5)	6 (9,7)
MGFA Clinical Classification n (%)	I	6 (19,4)	3 (9,7)	9 (14,5)
	II a	11 (35,5)	15 (48,4)	26 (41,9)
	II b	9 (29,0)	10 (32,2)	19 (30,7)
	III a	2 (6,5)	3 (9,7)	5 (8,1)
	III b	3 (9,7)	0	3 (4,8)
Klinisch stabil seit mind. 4 Monaten vor Studieneinschluß n (%)		31 (100)	31 (100)	62 (100)
MGFA Therapy-Status n (%)	NT	3 (9,7)	2 (6,5)	5 (8,1)
	CH	3 (9,7)	4 (12,9)	7 (11,3)
	PR	1 (3,2)	0	1 (1,6)
	IM	6 (19,4)	5 (16,1)	11 (17,7)
	CH, IM	14 (45,2)	12 (38,7)	26 (41,9)
	CH, PR, IM	4 (12,9)	5 (16,1)	9 (14,5)
	CH, PR, IGc	0	1 (3,2)	1 (1,6)
	CH, PR, IM, IGc	0	1 (3,2)	1 (1,6)
	CH, IM, IGc	0	1 (3,2)	1 (1,6)
Spezifizierung IM (n=48) n (%)	Aza	18 (58,1)	22 (71,0)	40 (64,5)
	MMF	2 (6,5)	2 (6,5)	4 (6,5)
	CsA	2 (6,5)	0	2 (3,2)
	MTX	1 (3,2)	0	1 (1,6)
	Tac	1 (3,2)	0	1 (1,6)
Thymektomie n (%)	SPT	13 (41,9)	15 (48,4)	28 (45,2)

Tabelle 5: Patientencharakteristika zu Visit 1. Epidemiologische Daten, Subgruppen, klinische Klassifikation und Therapie-Status nach den Kriterien der Myasthenia gravis Foundation of America (MGFA) (Jaretzki et al., 2000).

OMG: okuläre MG; EOMG: early-onset MG; LOMG: late-onset MG; TOMG: Thymom-assoziierte MG.

NT: no therapy; CH: Cholinesterase inhibitors PR: Prednisone IM: Immunosuppression therapy other than Prednisone; IGc: IVIg-Therapy, chronic; SPT: Status post-thymectomy. Spezifizierung der Immunosuppression therapy other than prednisone: Aza: Azathioprin; MMF: Mycophenolatmofetil; CsA: Cyclosporin A; MTX: Methotrexat; Tac: Tacrolimus.

Bei bis zu 33% der MG-Patienten liegt mindestens eine weitere Autoimmunerkrankung vor (Scherbaum et al., 1983). Im Studienkollektiv trifft dies für insgesamt sieben Patienten zu (11%). Tabelle 6 zeigt die epidemiologischen Daten, begleitende Autoimmunerkrankungen und den Medikamentenstatus dieser Teilnehmer.

Patienten mit weiteren Autoimmunerkrankungen, n=7 (11%)					
m/w	Alter	MG-Subtyp	MGFA-Class	Therapy-Status	AID
M	67	LOMG	IIa	CH, PR, IGc	M.Werlhof
W	46	EOMG	IIa	CH, SPT	M.Basedow
W	64	LOMG	IIa	NT	Rheumatoide Arthritis
W	53	TOMG	IIIb	CH, IM (Aza), SPT	Psoriasis
W	39	EOMG	IIIa	CH, PR, IM (MMF), IGc, SPT	Autoimmunthyreoiditis
M	60	OMG	I	CH, PR, IM (CsA)	Psoriasis-Arthritis
W	37	EOMG	II a	CH, PR, IM (Aza), SPT	SLE

Tabelle 6: Daten der Studienteilnehmer mit weiterer Autoimmunerkrankung (AID). Zwei der sieben Patienten waren der Impfgruppe zugeteilt. SLE= Systemischer Lupus erythematoses.

4.3 Acetylcholinrezeptor-Antikörper-Titer

Als primärer Endpunkt wurde die relative Änderung der AChR-Ak gewählt (vgl. Kap. 3.6.2). Im Vergleich zwischen der Verum- und der Plazebogruppe fanden sich bezüglich des primären Endpunktes keine signifikanten Unterschiede (p-Wert= 0,406; Mann-Whitney-U-Test): Im dreimonatigen Studienverlauf sanken die Titerwerte im Mittel um 6,0% in der Impfgruppe. In der Plazebogruppe sanken die Titer im gleichen Beobachtungszeitraum um 4,2%.

AChR-Ak-Titer		Verumgruppe (±SD)	Plazebogruppe (±SD)	p-Wert
in nmol/l	Visit 1	28,7 (±52,7)	20,2 (±20,0)	n.s.
	Visit 3	26,6 (±49,00)	18,6 (±18,7)	n.s.
	Visit 5	25,8 (±45,8)	19,6 (±20,1)	n.s.
in %	Relative Änderung: <i>TiterV5/TiterV1 -1</i>	- 6,0 (±23,3)	-4,2 (±23,4)	n.s.

Tabelle 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der AChR-Ak-Titer nach Therapiegruppen und Studienvsits. Der primäre Endpunkt, die relative Änderung der Titerwerte, zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Therapiegruppen. Signifikanztestung: Mann-Whitney-U-Test.

Das Wirksamkeitsmaß δ mit der Formel

$$\delta = \Delta \text{AChR-Ak Titer}_{\text{Plazebo}} - \Delta \text{AChR-Ak Titer}_{\text{Verum}}$$

ist demnach > 0 . Die Impfung hat daher keinen positiven Effekt auf die Veränderung der AChR-Ak-Titer im Sinne einer Antikörperboosterung gehabt.

Die Boxplots in Abbildung 4 visualisieren die Verteilung der Änderung der AChR-Ak-Titer. Ein Ausreißer in der Therapiegruppe (gekennzeichnet mit „20“) zeigte einen Titeranstieg von 6,9 auf 12,5, was einem prozentualen Anstieg von 81,2% entspricht. Dieser Titeranstieg ging nicht mit einer Verschlechterung der klinischen Symptomatik einher (mBS gleichbleibend bei 10 Punkten).

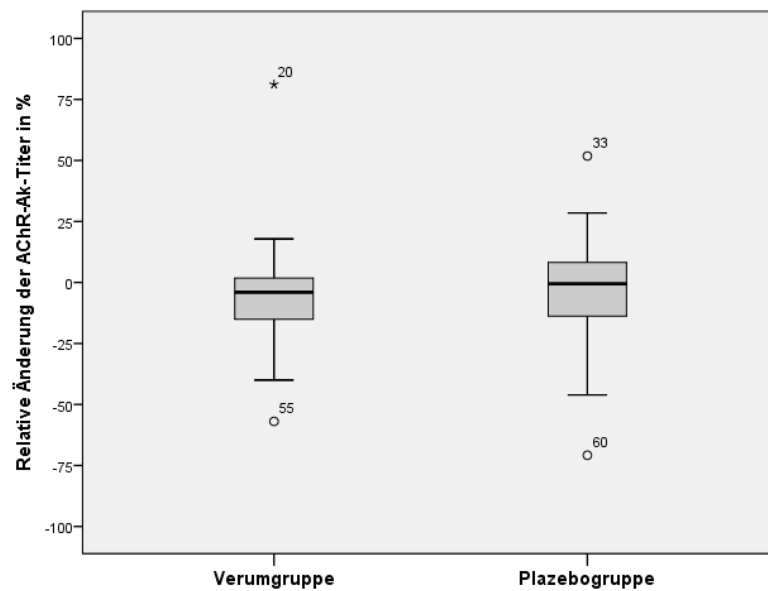


Abbildung 4: Die Boxplots zeigen die Verteilung der relativen Änderung der AChR-Ak-Titer nach Therapiegruppen. Angaben in Prozent. Box: Spanne von der ersten zur dritten Quartile, Whiskers: Spanne aller Werte außer den Ausreißern, Zahlen: Patientennummer der Ausreißer.

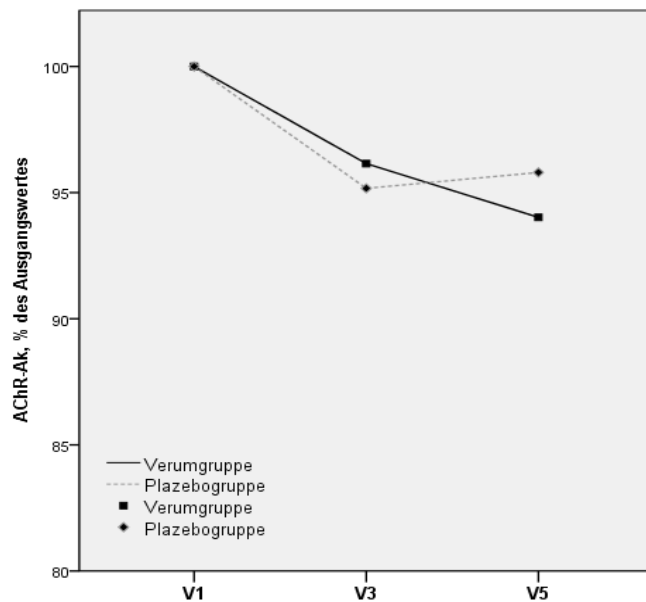


Abbildung 5: Relative Änderung der AChR-Ak in Prozent vom Ausgangswert.

Fünf Studienteilnehmer zeigten einen klinisch relevanten Titeranstieg von $\geq 20\%$. Einer der Teilnehmer war der Impfgruppe, die übrigen vier der Plazebogruppe zugeteilt.

	Verumgruppe (n)	Plazebogruppe (n)	Zeilensumme
AChR-Ak-Anstieg <20%	30	27	57
AChR-Ak-Anstieg $\geq 20\%$	1	4	5
Spaltensumme	31	30	61

Tabelle 8: Vierfeldertafel. Patienten mit und ohne klinisch relevanten AChR-Ak-Titeranstieg $\geq 20\%$. $p=n.s.$ im exakten Test nach Fisher

Tabelle 9 zeigt die epidemiologischen Daten und AChR-Ak- und mBS-Werte der fünf Teilnehmer mit AChR-Ak-Titeranstieg.

Patienten mit AChR-Ak-Anstieg $\geq 20\%$											
m/w	Alter	MG-Subtyp	MGFA-Class	Therapy-Status	AChR-Ak (nmol/l)			mBS			AE
					V1	V3	V5	V1	V3	V5	
w	64	LOMG	III a	CH, IM	6,9	7,1	12,5	1,67	1,67	1,67	Erk.
w	43	EOMG	II a	IM, SPT	40,0	48,2	48,2	0	0	0	Erk.
m	73	LOMG	II b	CH, PR, IM	4,7	5,1	7,2	0,67	0,67	0,5	Ø
m	69	OMG	I	CH	2,0	2,0	2,5	0,17	0,5	0,5	Ø
w	39	EOMG	III a	CH, PR, IM, IGc, SPT	28,8	38,0	37,0	1,67	1,83	1,67	Erk.

Tabelle 9: Epidemiologische Daten, AChR-Ak-Titer, mBS-Werte und Adverse Events (AE) der fünf Teilnehmer mit einem relativen AChR-Ak-Anstieg von mindestens 20%. Es zeigen sich keine besonderen Verteilungsauffälligkeiten unter diesen Probanden. Die Patientin in der ersten Zeile war als einzige der Verumgruppe zugeteilt. Erk.= Erkältungssymptomatik.

Abschließend stellt Tabelle 10 die relativen AChR-Ak-Titer-Änderungen bei den nicht-immunsupprimierten Patienten dar. Auch wenn im Schnitt bei den geimpften nicht-immunsupprimierten Patienten eine Reduktion der Titerwerte um 8,7% und bei den mit Plazebo behandelten Patienten ein leichter Anstieg um 3,9% zu verzeichnen ist, ist dieser Unterschied nicht signifikant.

AChR-Ak-Titer		Verumgruppe, n=6, MW (\pm SD)	Plazebogruppe, n=5, MW (\pm SD)	p-Wert
in nmol/l	Visit 1	55,4 (\pm 107,4)	9,3 (\pm 12,3)	n.s.
	Visit 3	53,6 (\pm 102,5)	8,8 (\pm 11,7)	n.s.
	Visit 5	50,4 (\pm 95,4)	10,8 (\pm 13,2)	n.s.
	Rel.Änderung: TiterV5/TiterV1 -1 in %	- 8,7 (\pm 16,3)	3,9 (\pm 14,1)	n.s.

Tabelle 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der AChR-Ak-Titer nach Therapiegruppen und Studienvisits bezogen auf die nicht-immunsupprimierten Patienten (n=11). Der primäre Endpunkt, die relative Änderung der Titerwerte, zeigt keinen signifikanten Unterschied. Signifikanztestung: Mann-Whitney-U-Test.

4.4 Influenza-Antikörper-Titer

Die Blutabnahme zur Messung der anti-Influenza-Antikörper-Titer erfolgte zu Visit 1, vor der Impfung und zu Visit 3, etwa drei Wochen nach der Impfung. Gemessen wurden jeweils die Titer der Stämme Influenza-A und -B der Immunglobulin-Klassen IgA und IgG im ELISA-Test.

Innerhalb der Verumgruppe zeigten sich statistisch signifikante Titeranstiege bei Influenza-A IgA (mittlerer Anstieg 55%) und Influenza-B IgG (mittlerer Anstieg 41%). Nicht signifikant stiegen die Titer bei den übrigen Testreihen der Verumgruppe an. In der Plazebogruppe fallen die Werte im Mittel leicht ab.

Mittlerer Titeranstieg	Ig-Klasse	Verumgruppe n=31, (\pm SD)	Plazebogruppe n=31, (\pm SD)	p-Wert
Influenza-A	IgA	1,55 (\pm 1,17)	1,00 (\pm 0,29)	0,014*
	IgG	1,08 (\pm 0,39)	0,97 (\pm 0,21)	n.s.
Influenza-B	IgA	1,10 (\pm 0,44)	1,00 (\pm 0,37)	n.s.
	IgG	1,41 (\pm 0,81)	0,99 (\pm 0,21)	0,007**

Tabelle 11: Darstellung des mittleren Anstieges der ELISA-Titer nach Virenstamm, Ig-Klasse und Therapiegruppe. Der mittlere Titeranstieg wurde berechnet als Mittelwert der Quotienten aus ELISA-Titer V3 / ELISA-Titer V1. In Klammern Standardabweichung. Signifikanztestung: Student's T-Test.

In der Impfgruppe war nur ein Studienteilnehmer zu verzeichnen, der mit einem Titeranstieg um das 5,1-fache eine Serokonversion aufzeigte (Serokonversion = mindestens vierfacher Titeranstieg).

Die Abbildungen 6-9 stellen die Anzahl der Patienten mit positiven, negativen oder ELISA-Titern im Graubereich vor und nach Impfung dar. In dem verwendeten Assay werden Werte $\geq 11,5$ als positiv und $\leq 8,5$ als negativ gewertet, Werte dazwischen sind nicht eindeutig zu bewerten („im Graubereich“). Es zeigt sich nur in der Verteilung der Werte bei Influenza B IgG zu Visit 3 ein signifikanter Unterschied zur Placebogruppe. Auffällig ist die hohe Zahl positiver anti-Influenza A IgG-Titer bereits vor der Impfung in beiden Therapiegruppen (jeweils 30 von 31 positiv).

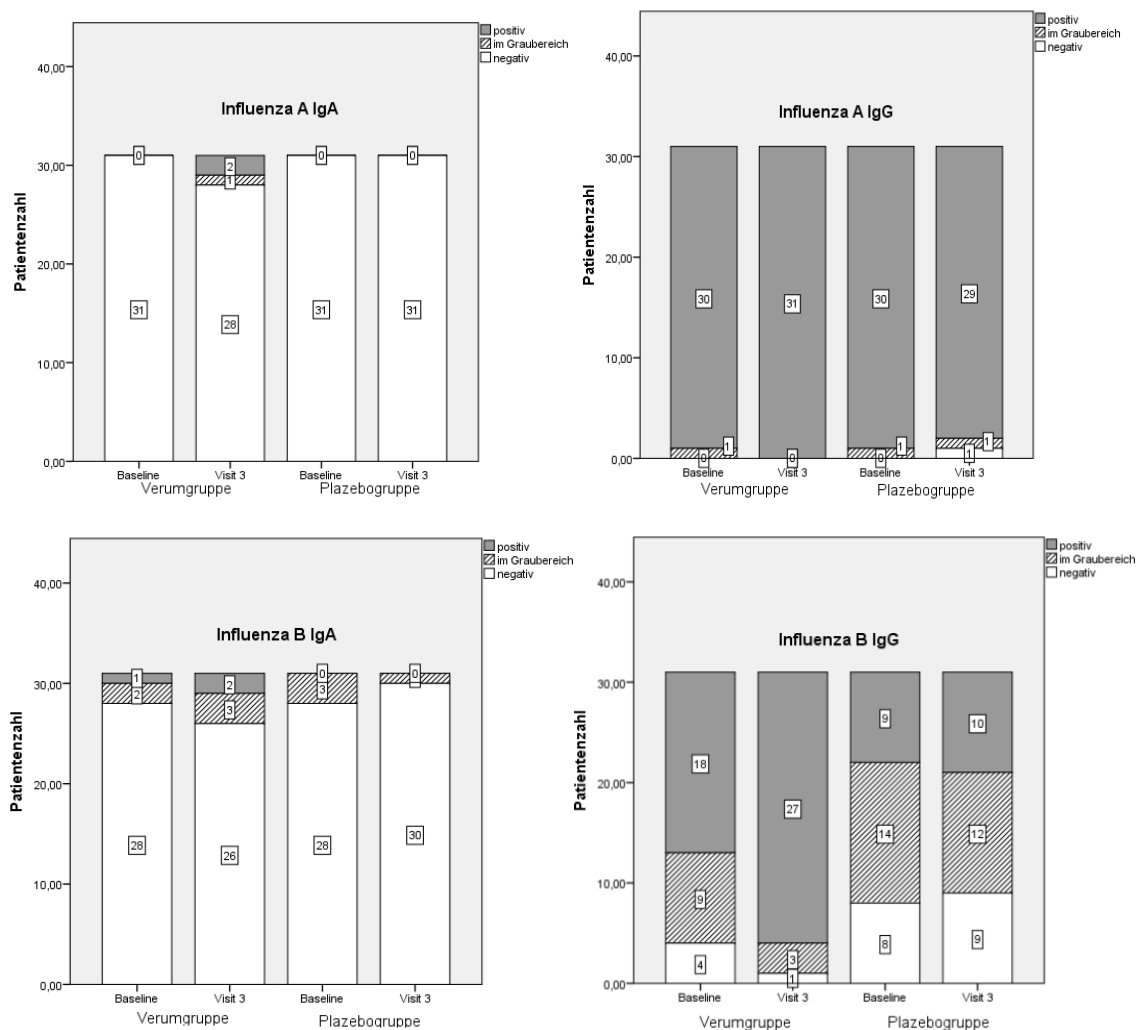


Abbildung 6-9: Darstellung der absoluten Anzahl und des Verlaufs positiver, negativer und Titer im Graubereich der einzelnen Influenza-Ak-Klassen im verwendeten ELISA-Assay. Während in der Placebogruppe die Zahlen weitgehend konstant bleiben, zeigt sich in der Impfgruppe bei Influenza B IgG ein signifikanter Verteilungsunterschied zur Placebogruppe ($\chi^2=19,61$; $p=0,000$).

Beim Vergleich der nicht-immunsupprimierten mit den immunsupprimierten Studienteilnehmern innerhalb der Impfgruppe zeigen sich keine signifikanten Differenzen (Tabelle 12). In drei der vier getesteten Antikörperlinien ist bei den nicht-immunsupprimierten ein höherer Titeranstieg erkennbar. Umgekehrt ist der Anstieg der Titer um 63% bei den immunsupprimierten Patienten der Impfgruppe vergleichsweise deutlich (nicht-immunsupprimierte 21%).

Mittlerer Titeranstieg		Nicht- Immunsupprimierte Verumgruppe (±SD) n=6	Immunsupprimierte Verumgruppe (±SD) n=25	p- Wert
Influenza A	<i>IgA</i>	1,21 (±0,28)	1,63 (±1,28)	n.s.
	<i>IgG</i>	1,18 (±0,24)	1,06 (±0,42)	n.s.
Influenza B	<i>IgA</i>	1,18 (±0,57)	1,08 (±0,42)	n.s.
	<i>IgG</i>	1,44 (±0,60)	1,40 (±0,86)	n.s.

Tabelle 12: Darstellung des mittleren Anstieges der ELISA-Titer nach Virenstamm, Ig-Klasse Immunsuppressionsstatus innerhalb der Verumgruppe. Der mittlere Titeranstieg wurde berechnet als Mittelwert der Quotienten aus ELISA-Titer V3 / ELISA-Titer V1. In Klammern Standardabweichung. Signifikanztestung: Student's T-Test.

Impf- saison	Infl-A IgA	Infl-A IgG	Infl-B IgA	Infl-B IgG	H1N1	H3N2	B
05/06					<u>A/New</u> <u>Caledonia</u>	A/California	B/Jiangsu
06/07 (n=8)	1,45 (±0,69)	1,04 (±0,39)	1,01 (±0,44)	1,34 (±0,52)	<u>A/New</u> <u>Caledonia</u>	<u>A/Wisconsin</u>	<u>B/Malaysia</u>
07/08 (n=14)	1,83 (±1,63)	0,99 (±0,27)	1,20 (±0,53)	1,57 (±1,12)	A/Solomon Islands	<u>A/Wisconsin</u>	<u>B/Malaysia</u>
08/09 (n=9)	1,19 (±0,25)	1,26 (±0,51)	1,03 (±0,27)	1,22 (±0,24)	A/Brisbane	A/Brisbane	B/Florida
p- Wert	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			

Tabelle 123: Unterschiede der mittleren ELISA-Titeranstiege zwischen den einzelnen Impfsaisons und unterschiedlichen Impfstoffzusammensetzungen innerhalb der Impfgruppe (n=31). Unterstrichen sind die jeweiligen Antigene, die zur Vorsaison identisch sind. Signifikanztestung mit univariater ANOVA.

Da im Studienablauf je nach Impfsaison drei verschieden zusammengesetzte Impfstoffe verwendet wurden, stellt sich die Frage, ob das Ansprechen der Studienteilnehmer auf die einzelnen Impfstoffe unterschiedlich ist. Tabelle 13 zeigt den mittleren Anstieg der ELISA-Titer innerhalb der Impfgruppe für jede Impfsaison und die zugehörige Impfstoffzusammensetzung. Mittels univariater Varianzanalyse (ANOVA) konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

Die Abbildungen 10 A-D zeigen das Verhältnis von Ausgangsantikörpertitern und mittlerem Titeranstieg (MFI). Es zeigt sich eine signifikante inverse Korrelation bei Influenza A-IgG und Influenza B-IgG.

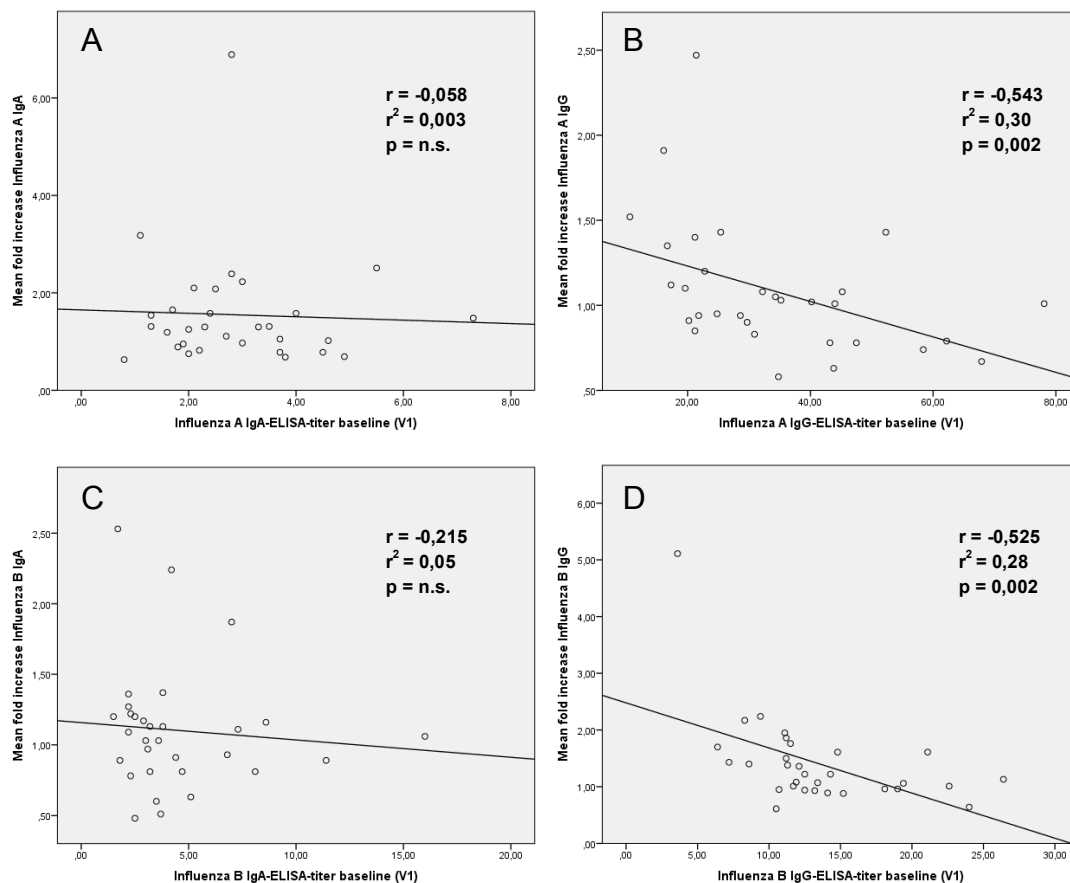


Abbildung 10 A-D: Korrelation von Baseline Influenza-Antikörper-Titern und mittlerem Titeranstieg (mean fold increase) bei den Patienten der Verumgruppe. Es zeigt sich eine signifikante inverse Korrelation für beide Influenza-Stämme der IgG-Klasse (Abb. B und D). Berechnung Spearman's Rangkorrelationskoeffizient r_s .

4.5 Modifizierter Myasthenie-Score nach Besinger und Toyka

Den Verlauf der Mittelwerte des mBS gibt Tabelle 14 wieder. In keiner der Therapiegruppen kommt es zu einem Anstieg der Mittelwerte, was einer klinischen Verschlechterung entsprechen würde. Insgesamt fallen die Werte im dreimonatigen Verlauf in beiden Gruppen ab. Es finden sich keine signifikanten Differenzen zwischen den Therapiegruppen.

Modifizierter Myasthenie-Score	Impfgruppe (n=31)	Plazebogruppe (n=31)	p-Wert
Visit 1	0,61 ($\pm 0,47$)	0,60 ($\pm 0,40$)	n.s.
Visit 3	0,59 ($\pm 0,49$)	0,60 ($\pm 0,40$)	n.s.
Visit 5	0,54 ($\pm 0,50$)	0,52 ($\pm 0,40$)	n.s.
Absolute Änderung mBS			
Visit 3 - Visit 1	-0,02 ($\pm 0,13$)	$\pm 0,00$ ($\pm 0,20$)	n.s.
Visit 5 - Visit 1	-0,08 ($\pm 0,27$)	-0,06 ($\pm 0,22$)	n.s.

Tabelle 14: Verlauf der Mittelwerte und absolute Änderungen des Myasthenie-Score (mBS) nach Therapiegruppen (Standardabweichung in Klammern). Berechnet wurde der Myasthenie-Score als Gesamtscorewert dividiert durch die getesteten Items (in der Regel n=6). Signifikanztestung Mann-Whitney-U-Test.

4.6 Medikamentenänderung

Tabelle 15 zeigt die Anzahl der Patienten, deren Pyridostigmin- oder immunsuppressive Medikation sich während des Studienverlaufs änderte. Eine Erhöhung vor allem des symptomatisch wirkenden Acetylcholinesterasehemmers Pyridostigmin (Mestinon®, Kalymin®) kann eine kurzfristige Verschlechterung der klinischen Symptomatik anzeigen. Bei 52 der 62 Studienteilnehmer änderte sich die Medikation der Immunsuppressiva und Acetylcholinesterasehemmer nicht. Nur drei Patienten mussten die Dosierung steigern. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen. Tabelle 16 listet die einzelnen Medikamentenänderungen der zwölf Studienteilnehmer mit epidemiologischen Daten, Änderungen der AChR-Ak-Titer und Änderungen des Myasthenie-Scores auf.

Medikamentenänderung	Keine Änderung	Dosisänderung	Gesamt	
Impfgruppe	27	4	31	p= n.s.
Plazebogruppe	25	6	31	
Gesamt	52	10	62	
Pyridostigmindosis				
Impfgruppe	30	1	31	p= n.s.
Plazebogruppe	27	4	31	
Gesamt	57	5	62	
Immunsuppressivadosis				
Impfgruppe	28	3	31	p= n.s.
Plazebogruppe	29	2	31	.
Gesamt	57	5	62	

Tabelle 15: Änderung der Immunsuppressiva- und Pyridostigmin-Dosis im Studienverlauf. Die Mehrzahl der Patienten behält die Medikation von Visit 1 bei. Signifikanztestung: Exakter Test nach Fisher.

m/w	Alter	Therapie- gruppe	MG- Subtyp	MGFA- Clinical- Status	MGFA- Therapy- Status	Änderung AChR-Ak in %	Myasthenie- Score V1 / V3 / V5	Pyridostigmindosis	Immunsuppressivadosis
w	65	Verum	LOMG	III b	CH, PR, IM (Aza), SPT	-35,05	1,5 / 1,67 / 1,33	k.Ä.	Aza 50mg→75mg (V4)
m	48	Verum	EOMG	II b	CH, IM (Aza), SPT	-3,68	0,5 / 0,67 / 0,67	Mestinon 370mg→ 270mg (V5)	k.Ä.
w	60	Verum	EOMG	II b	CH, IM (Aza), SPT	±0	1,0 / 1,0 / 0,67	k.Ä.	+ Urbason 8mg (V5)
m	60	Verum	OMG	I	CH, PR, IM (CsA)	-56,94	0,5 / 0,5 / 0,5	k.Ä.	CsA 200mg→ 100mg (V3)→ 150mg (V5); Decortin 25mg→ 16mg (V3)→Urbason 8mg(V5)*
w	46	Verum	EOMG	II a	CH, PR, IM (Tac)	-2,04	0,67 / 0,5 / 0,5	k.Ä.	Tac 6mg→ 9mg (V5); Decortin 10mg → 5mg (V5)*
m	74	Plazebo	TOMG	II b	CH, IM (Aza), SPT	-36,43	0,33 / 0,33 / 0,17	Kalymin 180mg → 90mg (V5)	Umstellung Aza 125 → MMF 500 (V5)
m	43	Plazebo	EOMG	II a	CH, IM (Aza), SPT	-8,55	0,33 / 0,5 / 0,33	Mestinon 120mg → 180mg (V3) → 120mg (V4)*	k.Ä.
m	67	Plazebo	LOMG	II a	CH, PR, IGc	+9,75	0,67 / 1,0 / 0,67	Mestinon 150mg→ 90mg (V2)→270mg (V4) → 330mg (V5)	k.Ä.
w	46	Plazebo	EOMG	II a	CH, SPT	n.E.	0,33 / 0,17 / 0,17	Mestinon 210mg → 180mg (V5)	k.Ä.
m	74	Plazebo	LOMG	II a	CH, PR, IM (Aza)	+0,27	0,17 / 1,0 / 0	k.Ä.	Urbason 3mg → 2mg (V5)
m	69	Plazebo	OMG	I	CH	+24,88	0,17 / 0,5 / 0,5	Kalymin 80mg → 40mg (V3)	k.Ä.
m	71	Plazebo	LOMG	II b	CH, IM (Aza)	-8,78	0,17 / 0,17 / 0,17	k.Ä.	Aza 75mg → 50mg (V4)

Tabelle 16: Auflistung der Studienteilnehmer mit Medikamentenänderung und Zeitpunkt der Änderung (V1-5). „n.E.“= nicht erhältlich, „k.Ä.“ = keine Änderung. * wurde als gleichbleibende Therapie gewertet.

4.7 Unerwünschte Ereignisse, Medikamentensicherheit

Tabelle 17 zeigt die Häufigkeit unerwünschter Ereignisse während des Studienablaufs. Da die Studie in der Wintersaison durchgeführt wurde, war eine Erkältungssymptomatik in beiden Therapiegruppen ein häufiges Ereignis. Mehr als 62% der geimpften Teilnehmer erkrankten gegenüber etwa 42% in der Placebogruppe. Diese Differenz erreicht jedoch keine statistische Signifikanz. Die Mehrzahl der Betroffenen zeigte innerhalb der ersten drei Wochen nach der Impfstoff- / Placeboapplikation Grippe-ähnliche Symptome. Insgesamt drei Patienten beschrieben eine subjektive Verschlechterung der myasthenen Symptomatik. Bei einem dieser Patienten aus der Impfgruppe korrelierte dies mit einem deutlichen Anstieg des Myasthenie-Scores von 0,166 auf 1,166. Die Verschlechterung war assoziiert mit einer Erkältungssymptomatik. Eine Auswirkung auf die AChR-Ak-Titer zeigte sich nicht (V1 35,5 nmol/l, V5 35,3 nmol/l). Die Symptomatik der anderen beiden Patienten fand kein Korrelat im mBS.

Im Studienverlauf trat ein ernsthaftes unerwünschtes Ereignis (Serious Adverse Event, SAE) auf. Eine Patientin musste zwischen Visit 3 und 4 nach einer oberen gastrointestinalen Blutung stationär behandelt werden. Dieses Ereignis wurde von einer bei dieser Studie nicht als Prüferin tätigen, unabhängigen Ärztin als nicht im Zusammenhang mit der Studienmedikation bewertet.

Adverse Events	Verumgruppe n (%)	Plazebogruppe n (%)	p- Wert	RR (95%-KI)
Lokale Symptome:				
Schmerzen	5 (16,1)	1 (3,2)	n.s.	5,00 (0,62-40,37)
Juckreiz	0	1 (3,2)	n.s.	
Systemische Symptome:				
Erkältungssymptomatik	19 (61,3)	13 (41,9)	n.s.	1,46 (0,89-2,41)
Davon bis V3	13 (41,9)	8 (25,8)	n.s.	1,63 (0,79-3,36)
Müdigkeit/ Abgeschlagenheit	2 (6,5)	5 (16,1)	n.s.	0,40 (0,08-1,91)
Kopfschmerzen	3 (9,7)	1 (3,2)	n.s.	3,00 (0,33-27,29)
Übelkeit und Erbrechen	2 (6,5)	1 (3,2)	n.s.	2,00 (0,19-20,94)
Schwindel/ Schwächeanfall	3 (9,7)	1 (3,2)	n.s.	3,00 (0,33-27,29)
Subj. Verschlechterung der MG	1 (3,2)	2 (6,5)	n.s.	0,50 (0,48-5,23)
Gastrointestinale Beschwerden	3 (9,7)	5 (16,1)	n.s.	0,60 (0,16-2,30)
EBV-Infektion	1 (3,2)	0	n.s.	
Harnwegsinfektion	0	1 (3,2)	n.s.	
Herpes labialis	0	1 (3,2)	n.s.	
Onychomykose	1 (3,2)	0	n.s.	
Sehverschlechterung	1 (3,2)	0	n.s.	
Sturz	1 (3,2)	0	n.s.	
Serious Adverse Events				
Hospitalisierung	1 (3,2)	0	n.s.	

Tabelle 17: Auflistung aller unerwünschten Ereignisse (Adverse Events, AE) und aller ernsthaften unerwünschter Ereignisse (Serious Adverse Events, SAE). Es finden sich keine signifikant unterschiedlichen Häufigungen unerwünschter Ereignisse zwischen den beiden Therapiegruppen. Signifikanztestung mit Chi-Quadrat-Test. Bei den Ereignissen, die häufiger als zweimal auftraten, ist das relative Risiko (RR) der Impfgruppe gegenüber der Plazebogruppe mit 95%-Konfidenzintervallen angegeben.

4.8 Ergebnisse der telefonischen Befragung nach Studienende

Nach Ende der Studie wurde versucht die Teilnehmer telefonisch zu kontaktieren, um den weiteren Verlauf nach Ende der Beobachtungsphase in Hinblick auf die Häufigkeit einer Influenza bzw. Influenza-artigen Erkrankung in der Verum- und Impfgruppe zu untersuchen.

Es konnten insgesamt 33 der 62 Patienten erreicht werden. Ursachen für die Nicht-Erreichbarkeit waren „Nummer nicht verfügbar“ (n=15), „Teilnehmer bereits verstorben“ (n=4) sowie „Teilnehmer telefonisch nicht erreichbar“ (n=10).

Von den 33 Patienten waren 17 der Verum- und 16 der Plazebogruppe zugehörig. Nach telefonischer Auskunft sei bei keinem der Teilnehmer klinisch oder serologisch eine Influenza diagnostiziert worden. Eine Grippe-artige Erkrankung („Influenza-like-illness“, ILI) trat bei den Befragten insgesamt selten und in keiner der Therapiegruppen signifikant häufiger auf (exakter Test nach Fisher). Tabelle 13 zeigt die Ergebnisse der telefonischen Befragung hinsichtlich des Auftretens einer Grippe-artigen Erkrankung in der Zeit nach dem jeweiligen Beobachtungsende (zwischen vier und sechs Jahre). Von den Patienten ließen sich acht Befragte in den Folgejahren gegen Influenza impfen (Verumgruppe n=5, Plazebogruppe n= 3).

	Verumgruppe n (%)	Plazebogruppe n (%)	Gesamt n (%)
ILI ja	2 (11,8)	3 (18,8)	5 (15,2)
ILI nein	15 (88,2)	13 (81,2)	28 (84,8)
Gesamt	17 (100)	16 (100)	33 (100)

Tabelle 13: Ergebnisse der telefonischen Analyse mit der Frage nach dem Auftreten einer Grippe-artigen Erkrankung („Influenza-like-illness“, ILI) in der Zeit nach Ende des jeweiligen Beobachtungszeitraums nach Therapiegruppe. p= n.s., exakter Test nach Fisher.

5. Diskussion

5.1 Diskussion der Methodik

5.1.1 Studiendesign und Ablauf

Die vorliegende Studie ist die erste Phase-IIIb-Studie bei MG, die nach deutschem Arzneimittelgesetz (Bundesjustizministerium, 2005) und den Richtlinien der Guten Klinischen Praxis durchgeführt wurde (GCP-Verordnung, 2004). Als prospektive, randomisierte, Plazebo-kontrollierte Doppelblindstudie stellt sie den Goldstandard der evidenzbasierten Medizin (Sackett et al., 1996) und damit die aussagekräftigste Methode in Gesundheitsfragen dar (Ross et al., 1999).

Durch die Verabreichung eines Plazebopräparates war es möglich, eine repräsentative Kontrollgruppe zu bilden, die sich aus dem gleichen Patientenkollektiv zusammensetzt wie die Verumgruppe. Eine mögliche Alternative zur Verringerung der benötigten Fallzahl wäre ein Crossover-Studiendesign gewesen, bei dem die eine Gruppe zunächst den Impfstoff und zu einem späteren Zeitpunkt das Plazebo erhält und bei der zweiten Gruppe in umgekehrter Weise verfahren wird (Nicholson et al., 1998). Aufgrund mehrerer potentieller Überhangeffekte (bspw. Influenza-Titer-Änderung nach Impfung sowie Auswirkung auf die Häufigkeit von AE bei bereits geimpfter Kontrollgruppe) hätte dieses Konzept zu einer verminderten Validität geführt (Schumacher et al., 2009).

In anderen Studien, die sich ebenfalls mit der Wirksamkeit oder der Sicherheit der Influenza-Impfung bei anderen Patientenkollektiven beschäftigten, wurde mitunter eine Kontrollgruppe mit gesunden Probanden parallel beobachtet (Holvast et al., 2009a; Moriabadi et al., 2001; van Assen et al., 2010). Dies hat vor allem Bedeutung, wenn die Impfantwort im Vergleich zu Gesunden die zentrale Fragestellung einer Studie ist.

Die randomisierte Verteilung der Studienteilnehmer auf die beiden Therapiegruppen erfolgte balanciert für das Merkmal einer medikamentösen Immunsuppression. So konnte erreicht werden, exakt die Hälfte der immunsupprimierten Patienten sowie die Hälfte nicht-immunsupprimierter Patienten der Verum- bzw. Plazebogruppe zuzuteilen. Das Ziel, die Studie doppelblind durchzuführen, brachte folgende Planungsschwierigkeiten mit sich: Erstens unterscheidet sich der Impfstoff als Fertigspritze in seinem Aussehen vom Plazebo, so dass sowohl dem Patienten als auch dem Untersucher die Thera-

piezuteilung anhand der Injektionsspritze ersichtlich geworden wäre. Zweitens muss eine intramuskuläre Injektion von medizinischem Fachpersonal ausgeführt werden. Somit stellte die Selbsteinnahme durch den Patienten, wie sie häufig in Langzeittherapiestudien in Tablettenform erfolgt, keine adäquate Möglichkeit dar. Durch den Einsatz einer Impfschwester, die für den Erhalt des Randomisierungsergebnisses und der Impfung oder Plazeboapplikation zuständig war, und der Verblindung der Teilnehmer mit Hilfe einer Flugzeugschlafmaske konnte die Doppelblindsituation in jedem Fall gewährleistet werden. In einer aktuellen Meta-Analyse zeigte sich durch die Verblindung im Rahmen von RCT (randomisiert kontrollierte Studie) bei der Influenzaimpfung eine Reduktion des Risikos für systematische Fehler („risk of bias“) von 22% auf 5% (Beck et al., 2011).

Der Ablauf der Studie erstreckte sich für jeden Studienteilnehmer über einen Beobachtungszeitraum von drei Monaten. Visit 3 im Prüfbüro sollte vor allem der Detektion einer humoralen Impfantwort durch eine Blutentnahme und Testung auf anti-Influenza-Ak dienen. Der Zeitpunkt- drei Wochen \pm 3 Tage nach der Impfung- deckt sich nicht nur mit den Empfehlungen des Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP, 1997), sondern auch mit 84% der untersuchten Studien einer Meta-Analyse zu den Ansprechraten der Influenzaimpfung (Seidman et al., 2012). Der relativ lange Beobachtungszeitraum wurde gewählt, da die Änderungen der AChR-Ak-Titer der Änderung der klinischen Symptomatik um zwei bis vier Monate vorausgehen kann (Schumm et al., 1984).

5.1.2 Rekrutierung und Fallzahl

Bei der MG handelt es sich mit einer Prävalenz von ca. 10-20 Erkrankten pro 100.000 Einwohnern (Phillips, 2004) nach den Kriterien der Europäischen Union um eine seltene Erkrankung (EU, 1999). Bei den sogenannten „seltenen Erkrankungen“ stellt die unzureichende Anzahl möglicher Teilnehmer Schwierigkeiten in der Durchführung und Planung von RCT dar (Behera et al., 2007).

Zwei Hauptgründe waren ursächlich für die Ablehnung einer Studienteilnahme der insgesamt 167 kontaktierten MG-Patienten: Zum einen wollten Patienten, die sich jährlich impfen lassen, nicht das Risiko eingehen, durch die Zuteilung zur Plazebogruppe den

potentiellen Impfschutz zu verlieren. Andere Patienten wiederum hatten Vorbehalte bezüglich der Sicherheit und Verträglichkeit der Impfung.

Bereits im Verlauf der Studie ergaben sich durch die subjektiven Angaben der Patienten und die klinische Beurteilung mittels mBS weder in der Plazebogruppe noch in der Verumgruppe Hinweise auf einen schädlichen Einfluss. Eine Fortführung der klinischen Prüfung und damit Patienten der Plazebogruppe eine mögliche protektive Impfung vorzuenthalten, erschien unethisch. Somit wurde - wie in Kapitel 4.1 dargestellt - eine verblindete Zwischenauswertung mit erneuter Fallzahlkalkulation durchgeführt. Die Daten konnten den klinischen Eindruck der Unschädlichkeit der Impfung bestätigen. Es zeigte sich eine größere Varianz der AChR-Ak-Titer. Gemeinsam mit den Einschätzungen der MG-Experten zur klinisch relevanten Titeränderung wurde die Fallzahl erneut berechnet, wodurch demonstriert werden konnte, dass die bisher erreichte Fallzahl zur Beantwortung der primären Fragestellung ausreicht. Die Rekrutierung für ProPATient wurde sodann nicht wieder aufgenommen.

5.1.3 Kritische Betrachtung der gewählten Endpunkte

5.1.3.1 *AChR-Ak-Titeränderung*

Die Änderung der AChR-Ak im Verlauf der dreimonatigen Studie wurde gewählt, da die AChR-Ak-Titer einen objektiven und reproduzierbaren Surrogatmarker für klinische Veränderungen bei MG-Patienten darstellen (Tindall, 1981). Bei Verlaufsuntersuchungen zeigt sich eine enge intraindividuelle Abhängigkeit der Antikörperkonzentrationen und dem individuellen Schweregrad der Myasthenie (Toyka et al., 1979). Spontane Fluktuationen der klinischen Symptomatik, die auf Unregelmäßigkeiten der Cholinesterasehemmer-Einnahme, Infektionen oder emotionalem Stress beruhen, führen hingegen zu keinen Änderungen der AChR-Ak-Titer (Oosterhuis et al., 1983). Einen weiteren Beleg für die intraindividuelle Korrelation von klinischem Verlauf und Antikörperverlauf zeigt die Plasmapheresetherapie (Dau et al., 1977) und Thymektomie (Vincent et al., 1983), wo der Titerabfall von einer klinischen Verbesserung begleitet wird. Unterschiedliche Auffassungen finden sich darüber, ob die Antikörper-Änderung der klinischen Verbesserung oder Verschlechterung vorausgeht oder nicht (Oosterhuis et al., 1983; Schumm et al., 1984).

5.1.3.2 *mBS*

Die Arbeit von Besinger et al. (1983) diene als Grundlage zur Studienplanung. Hier wurde die Korrelation zwischen einem klinischen Score, den wir in der vorliegenden Studie in geringfügig modifizierter Form verwendet haben, und den individuellen Veränderungen der Ak-Titer im Spontanverlauf nachgewiesen (Besinger et al., 1983). Der von Besinger et al. entwickelte Score wurde in mehreren Therapiestudien als primärer Endpunkt verwendet (Hohlfeld et al., 1985; Konishi et al., 2005; Ronager et al., 2001; Shibuya et al., 1994; Tindall, 1981). Therapiestudien bei der MG werden in der Regel mit einem MG-Score zur Evaluierung des klinischen Verlaufs durchgeführt. Alternativ können Patientenfragebögen wie bspw. der MG activities of daily living profile (MG-ADL)-Fragebogen verwendet werden, die eine gute Korrelation zum klinischen Verlauf zeigten (Wolfe et al., 1999).

Die MGFA empfiehlt in Therapiestudien bei MG-Patienten die Verwendung des quantitativen Myasthenia gravis Scores (QMG) zur Detektion klinischer Veränderungen (Jaretzki et al., 2000). Der QMG ist eine Erweiterung des von uns als sekundärer Endpunkt verwendeten mBS. Hierbei werden 13 statt 6 Items getestet. Hierdurch dauert der Test mit etwa 30 Minuten deutlich länger als der mBS (Barohn und Herbelin, 2000). Neben der getrennten Testung von linken und rechten Armen und Beinen erfolgt u.a. die Kraftmessung der linken und rechten Hand mit einem Hand-Dynamometer (Barohn et al., 1998). Es liegen keine Daten vor, die eine Überlegenheit des QMG gegenüber dem deutlich einfacher und schneller durchzuführenden mBS überprüft haben. Eine gute Reproduzierbarkeit- auch zwischen verschiedenen Untersuchern-, Reliabilität und Validität wurde für beide Tests beschrieben (Bedlack et al., 2005; Besinger et al., 1983; Jaretzki et al., 2000). Die Mitarbeit des Patienten, Fluktuationen der Symptomatik im Tagesablauf oder der Zeitpunkt der Einnahme der Cholinesterasehemmer kann Einfluss auf den Scorewert nehmen (Barohn et al., 1998). Nach Expertenmeinung wird die Verwendung beider Scores zur Verlaufsbeurteilung von MG-Patienten empfohlen (Gold et al., 2008).

Die Diskussion der anti-Influenza-Ak-Bestimmung folgt im Kapitel 5.2.3.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Repräsentativität der Studienpopulation

In der vorliegenden Studie war das Durchschnittsalter bei Studieneinschluss in beiden Therapiegruppen gleich. Durch Verbesserungen der Behandlungs- und Diagnosemöglichkeiten und damit sinkenden Mortalitätsraten steigt das Durchschnittsalter der MG-Patienten kontinuierlich an (Grob et al., 2008). Die Erstdiagnose erfolgt mittlerweile bei der Mehrheit der Patienten im Alter über 50 Jahren (Heldal et al., 2009). Mehr als 60% der MG-Patienten in den USA sind älter als 50 Jahre (Ciafaloni und Sanders, 2002). In Populationsstudien aus Regionen in Schweden sowie Großbritannien lag das mittlere Alter der MG-Patienten bei 57 bzw. 59,7 Jahren (Kalb et al., 2002; Robertson et al., 1998). Vergleichbar mit der Verteilung der Schweregrade in der ProPATient-Studie sind generell etwa 70% der Patienten von einer milden MG betroffen (Kalb et al., 2002).

Klinisch instabile Patienten oder Patienten mit schweren Allgemeinerkrankungen waren von einer Studienteilnahme ausgeschlossen. Patienten mit einer schwergradigen MG (MGFA-Klasse IV) sind nicht repräsentiert

Bis auf Teilnehmer mit seronegativer oder MuSk-positiver MG, die aufgrund fehlendem AChR-Ak-Nachweises von einer Studienteilnahme ausgeschlossen waren, zeigt die Verteilung der Subgruppen bei ProPATient eine Übereinstimmung mit der in Tabelle 1 dargestellten allgemeinen Subgruppen-Distribution. Zwischen den Therapiegruppen zeigten sich keine signifikanten Verteilungsunterschiede.

Über den Anteil immunsupprimierter MG-Patienten und genauen Angaben, wie häufig welche Immunsuppressiva angewendet werden, gibt es in der Literatur keine Angaben. Azathioprin, das bei der MG am häufigsten verwendete Immunsuppressivum (Hart et al., 2009), wurde bei 80% der immunsupprimierten Studienpatienten eingesetzt.

5.2.2 Diskussion der AChR-Ak-Änderung und klinischer Sicherheit

Es konnte in der ProPATient-Studie erstmals in einer Phase-III-Studie gezeigt werden, dass die Applikation einer Influenza-Impfung weder zu einem Anstieg der AChR-Ak-Titer noch zu klinisch messbaren Verschlechterungen oder dem vermehrten Auftreten unerwünschter Ereignisse führt.

Die Auslösung einer Autoantikörperboosterung durch eine Impfung ist bisher nur wenig untersucht worden. Beim SLE ist der vorübergehende Anstieg krankheitsassoziierter Autoantikörper nach einer Influenza-Impfung beschrieben worden. Eine korrelierende klinische Veränderung zeigte sich aber nicht (Abu-Shakra et al., 2002). Bei der Wegener-Granulomatose wurde kein signifikanter Anstieg der krankheitsbedingenden Anti-Neutrophilen zytoplasmatischen Antikörper (ANCA) nach einer Impfung gefunden (Holvast et al., 2009a). In der vorliegenden Studie hat die Influenza-Impfung bei den Studienteilnehmern der Verumgruppe im Beobachtungszeitraum von drei Monaten post injectionem zu keiner Boosterung der AChR-Ak-Produktion geführt. Im Gegenteil, im Verlauf der Studie sanken die Titerwerte innerhalb der Impfgruppe gegenüber dem Ausgangswert, was auch mit einer allgemeinen Verbesserung der Myasthenie-Score-Werte einherging. Eine Verschlechterung der Myasthenie wäre erwartungsgemäß sowohl mit einem Anstieg der AChR-Ak-Titer als auch der mBS-Werte einhergegangen. Interessanterweise war der Abfall der AChR-Ak besonders deutlich bei den nicht-immunsupprimierten Teilnehmern der Verumgruppe. Neben der deutlicheren AChR-Ak-Reduktion zeigten die nicht-immunsupprimierten Patienten gleichfalls einen stärkeren Anstieg der Influenza-Ak in drei der vier untersuchten Ig-Klassen. Hierbei stellt sich die Frage, inwieweit zum einen die Influenza-Impfung durch eine Protektion vor (mgltw. subklinischen) Infektionen eine AChR-Ak-Boosterung verhindert und zum anderen, ob durch die Induktion einer Immunantwort auf die Influenza-Impfung gleichzeitig eine Suppression der autoimmun-wirksamen B- und T-Zellen erfolgt. Eine Influenza-Impfung führt durch die Präsentation der inaktivierten HA-/NA-Oberflächenantigene über Antigen-präsentierende Zellen zu einer Aktivierung von CD4⁺-T-Zellen via MHC II. Die CD4⁺-T-Zellen induzieren und regulieren die B-Zell-Antwort im Rahmen der Plasmazell- und B-Gedächtniszelldifferenzierung sowie des Antikörperklassenwechsels (Holvast et al., 2007). Die Produktion der AChR-Ak ist ebenfalls T-Helfer-Zell-abhängig (Sommer et al., 2008). Theoretisch könnte die Auslösung einer Immunantwort auf die Impfung daher zu einer Reduktion der Autoimmunität-vermittelnden Ak führen. Bei nicht-immunsupprimierten Patienten könnte dieser Effekt stärker ausgeprägt sein, was durch das bessere Impfansprechen in drei der vier untersuchten Ig-Klassen gestützt würde. Demgegenüber steht, dass bei bis zu 15% gesunder Probanden nach einer Influenza-Impfung ein Neuauftreten oder Anstieg von Auto-Antikörpern nachgewiesen

wurde (Toplak et al., 2008). Auch beim SLE wurden transiente Anstiege von anti-Cardiolipin-Ak nach Influenza-Impfung gefunden (Vista et al., 2012), so dass sich bisher keine eindeutigen Hinweise für die genannte Hypothese finden lassen.

Nur ein Patient in der Verumgruppe zeigte im Verlauf eine Verschlechterung der myasthenen Symptomatik, die drei Monate nach der Impfung auftrat und mit einer Infektion der oberen Atemwege assoziiert war. Wie die Arbeiten von Oosterhuis et al. sowie Seybold und Lindstrom vermuten lassen, führt eine solche Infekt-getriggerte Fluktuation in der Regel – wie auch im vorliegenden Fall - zu keiner Änderung der AChR-Ak-Titer (Oosterhuis et al., 1983; Seybold und Lindstrom, 1981).

Die vorliegende Arbeit ist nicht nur die erste prospektive Studie zur Influenza-Impfung bei MG, sondern auch die erst dritte Plazebo-kontrollierte randomisierte Studie bei Autoimmunerkrankungen und der Influenza-Impfung überhaupt. Zuvor zeigten Chalmers et al. bei der rheumatoiden Arthritis (n=126) (Chalmers et al., 1994) sowie Miller et al. bei der multiplen Sklerose (n=104) (Miller et al., 1997), dass sich eine Influenza-Impfung bei den geimpften Patienten nicht negativ auf den klinischen Verlauf auswirkt. Wie Tabelle 18 im folgenden Kapitel verdeutlicht, liegt die Mehrzahl prospektiver Arbeiten mit Klasse-II-Evidenz zur Influenza-Impfung bei Autoimmunerkrankungen zur rheumatoiden Arthritis sowie dem SLE vor. Auch bei weiteren Patientengruppen, die immunsupprimiert sind, wie u.a. HIV-Infizierten (Malaspina et al., 2005), Organ- oder Stammzell-Transplantierten (Machado et al., 2005; Sanchez-Fructuoso et al., 2000) oder Tumorpatienten unter Chemotherapie (Meerveld-Eggink et al., 2011) wurden Studien zur Sicherheit der Influenza-Impfung durchgeführt. Kunisaki und Janoff fassten in einer Übersichtsarbeit die Ergebnisse dieser Studien zusammen und zeigten, dass auch bei diesen Erkrankungen die Influenza-Impfung sicher ist und insbesondere Patienten, deren Infektionsrisiko gegenüber der Normalbevölkerung erhöht ist, von einer Impfung profitieren (Kunisaki und Janoff, 2009). Auch Beck et al. fanden in ihrer Meta-Analyse keinen Hinweis auf eine gefährdete Patientensicherheit, Krankheitsverschlechterung oder gehäufte schwerwiegende Nebenwirkungen durch eine Influenza-Impfung bei Immunsupprimierten (Beck et al., 2011).

In der ProPATient-Studie traten unerwünschte Ereignisse in der Impfgruppe nicht signifikant häufiger auf als in der Plazebogruppe. Zu den AEs zählten vor allem Erkältungskrankheiten (Influenza-like-illness) und lokale Symptome an der Einstichstelle. Keines

der AEs trat in der Impfgruppe signifikant häufiger auf als in der Placebogruppe. In einer großen Meta-Analyse der Cochrane-Collaboration, die sich mit der Influenza-Impfung bei gesunden Erwachsenen befasst hat, traten lokale Schmerzen (RR 3,11; 95%-KI 2,08-4,66) und systemische Symptome wie Muskelschmerzen, grippale Symptome etc. (RR 1,29; 95%-KI 1,01-1,64) bei den geimpften Probanden signifikant häufiger auf als unter Placebobehandlung (Jefferson et al., 2007). In einer Meta-Analyse zur Influenza-Impfung bei Immunsupprimierten zeigte sich im Vergleich zu gesunden Kontrollen eine Häufung von generellem Unwohlsein (23.6% vs 12.0%). Diese Häufung zeigte sich jedoch auch bei mit Placebo geimpften Erkrankten, so dass die Autoren hierbei von einem Effekt der jeweils zugrundeliegenden Erkrankung ausgehen und nicht von einer Impfnebenwirkung (Beck et al., 2011).

Schwerwiegende unerwünschte Wirkungen wie bspw. die Auslösung einer Meningoencephalitis, eines Pemphigus vulgaris oder einer idopathischen thrombozytopenen Purpura sowie eines Guillain-Barré-Syndroms beruhen entweder auf Einzelfallberichten (Chhor et al., 2008; De Simone et al., 2008; Tsuji et al., 2009) oder stellen sehr seltene Nebenwirkungen dar (Tokars et al., 2012). Nach Expertenmeinung ist der Benefit einer Impfung ungleich größer als das Risiko einer seltenen Nebenwirkung (Kunisaki und Janoff, 2009; Opstelten et al., 2009).

Es existieren mittlerweile zwei Arbeiten, die sich mit den Auswirkungen der Influenza-Impfung bei MG-Erkrankten befasst haben: In einer retrospektiven Populationsstudie der Evidenzstufe IV untersuchten Zinman et al. den Zusammenhang zwischen Krankheitsexazerbationen mit konsekutiver Krankenhauseinweisung bei MG-Patienten und vorheriger Influenza-Impfung in der kanadischen Provinz Ontario zwischen 1992 und 2006. Hierfür wurden aus der Ontario Health Insurance Plan (OHIP) Datenbank Patienten identifiziert, die gegen Influenza geimpft wurden. Anhand der Canadian Institute for Health Information Discharge Abstract Database wurden Hospitalisierungen bei Patienten mit MG als codierte Hauptdiagnose erfasst, welche innerhalb von 42 Wochen nach der Impfung auftraten. Von den 42 Wochen wurden die ersten sechs nach der Impfung als sog. „Risk-Interval“ definiert und die Zahl der Krankenhausaufnahmen mit denen eines „Control-Interval“ (Woche 18 bis 42) verglichen. Bei insgesamt 513 Patienten zeigte sich keine signifikante Häufung der Einweisungen im Risikointervall (relative Inzidenz = 0,84; 95%-KI 0,65-1,09) (Zinman et al., 2009). Als problematisch bei dieser

Studie ist zu sehen, dass nur Krankheitsaggravierungen berücksichtigt wurden, die zu einer Krankenhausaufnahme führten. Leichte oder moderate Exazerbationen, die potentiell aber einen signifikanten Anteil der Patienten betreffen können, werden hierdurch nicht erfasst. Es lassen sich ebenfalls keine Rückschlüsse auf die Verträglichkeit der Influenza-Impfung ziehen. Da Fälle, in denen die MG nicht als aktive Diagnose kodiert wurde, von der Analyse ausgeschlossen wurden, sind Hospitalisierungen, die zwar primär Folge der Impfung sein können, aber nicht im Zusammenhang mit der MG gesehen werden, nicht erfasst. Die Meinung der Autoren, durch die Studie einen überzeugenden Nachweis erbracht zu haben, zukünftig alle MG-Patienten gegen Influenza zu impfen, kann daher nicht geteilt werden.

Eine zweite retrospektive Arbeit (Auriel et al., 2011) untersuchte zum einen die Impfcompliance von MG-Patienten und zum anderen die Nebenwirkungen der Influenza-Impfung. Hierbei wurden 74 MG-Patienten anhand eines Fragebogens während der Impfsaison 2009/2010 befragt, ob ihnen in der aktuellen Impfsaison entweder die saisonale Impfung, die Pandemie-Impfung gegen das H1N1-Virus oder beide Impfstoffe verabreicht wurden. Patienten mit einer Impfung wurden rückblickend nach Nebenwirkungen der Impfungen befragt. Patienten ohne Impfung wurden um Angabe von Gründen für das Ablehnen der Impfung gebeten. Die saisonale Influenza-Impfung erhielten 51,4% der Befragten, der Pandemie-Impfstoff wurde 32,4% appliziert und insgesamt 27% erhielten beide Impfstoffe. In der Befragung nach Nebenwirkungen gaben die Patienten nach der saisonalen Influenza-Impfung keine spezifischen Beschwerden an. Nach der H1N1-Impfung traten bei drei Patienten mögliche Nebenwirkungen auf (Neuropathie, Fieber, Bronchitis). Die Hauptgründe für ein Ablehnen der Impfung waren Angst vor generellen Nebenwirkungen (42,6%) sowie Angst vor einer Verschlechterung der MG (31,5%) (Auriel et al., 2011). Die Form des Studiendesigns in dieser retrospektiven Fallkontrollstudie ist generell sehr anfällig für Erinnerungsverzerrungen (sog. recall bias) (Okasha, 2007). Da auch bei gesunden Probanden signifikant häufiger milde Nebenwirkungen im Vergleich zu Placebo-geimpften Probanden auftreten (Jefferson et al., 2007), ist - wie hier dargestellt - das völlige Fehlen milder Nebenwirkungen in Frage zu stellen. Der alleinige Nutzen der Arbeit von Auriel et al. in Bezug auf die Einschätzung der Sicherheit der saisonalen Influenza-Impfung muss als sehr begrenzt angesehen werden.

Die Ergebnisse der beiden hier dargestellten Studien stehen jedoch im Einklang mit der ProPATIent-Studie: Bei MG-Patienten ist im Vergleich zu Gesunden von keiner schlechteren Verträglichkeit der Influenza-Impfung auszugehen. Eine jährliche Influenzaimpfung bei MG-Patienten kann nun mit Klasse Ib-Evidenz empfohlen werden. Die Ergebnisse der ProPATIent-Studie stützen die Empfehlungen der STIKO, Immunkompromittierte und chronisch Kranke jährlich gegen die saisonale Influenza zu impfen (RKI, 2012).

5.2.3 Diskussion der Impfantwort

Bei einer Inzidenz zwischen 18 und 23 gemeldeten Krankheitsfällen pro 100.000 Einwohner (RKI, 2009a) ist auch in einer Hochrisikopopulation wie MG-Patienten bei einer Fallzahl von $n=62$, die Detektion einer Influenza-Infektion unwahrscheinlich. Es trat sowohl während des Studienzeitraums als auch bei den 33 später befragten Teilnehmern kein Fall einer Influenza-Infektion auf. Obwohl eine langanhaltendere Immunität aufgrund ähnlicher oder identischer zirkulierender Virenstämme in den Folgesaisons selbst bei einmalig geimpften Personen zu erwarten ist, zeigte sich keine signifikante Reduktion der Grippe-artigen Erkrankungen in den Folgejahren verglichen mit den Nicht-Geimpften. Zusammenfassend lässt sich somit aufgrund der Fallzahl und geringen Inzidenz der Influenza keine Aussage über einen qualitativen Impferfolg im Sinne einer Vaccine efficacy und effectiveness treffen. Bei den Influenza-geimpften Teilnehmern der ProPATIent-Studie zeigte sich jedoch eindeutig ein quantitativer Impferfolg, gekennzeichnet durch einen im Vergleich zur Placebogruppe signifikanten Anstieg einzelner anti-Influenza-Ig-Klassen.

Das Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP) der European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA) empfiehlt zur Wirksamkeitsmessung vor Zulassung neuer Impfstoffe die Messung eines Impferfolges mittels HAI oder alternativ mittels Single-Radial Hemolysis-Test (SRH). Für die Zulassung neuer Impfstoffe wird bei 18 bis 60 Jahre alten Probanden gefordert, dass entweder mehr als 40% der Patienten eine Serokonversion (vierfacher Titeranstieg) und/ oder mehr als 70% eine Seroprotektion (HAI-Titer >40) aufweisen und/ oder im Mittel ein mehr als 2,5facher Anstieg der mittleren geometrischen Titer gezeigt wird (CPMP 1997).

In der ProPATient-Studie wurde ein ELISA-Test zur Messung der Impfantwort durchgeführt. Es herrscht eine gute Korrelation zwischen HAI und ELISA (Murphy et al., 1981; Remarque et al., 1993). Der allgemeine Level der ELISA-Ig-Titer ist im Vergleich zum HAI höher, vermutlich weil im ELISA auch Antikörper mit geringerer Avitität gebunden werden (Feng et al., 2009). Hierdurch erklärt sich auch die höhere Sensitivität im Vergleich zu anderen Labormethoden (Murphy et al., 1980; Van Voris et al., 1985). Ein direkter Vergleich der ELISA-Titer mit den HAI-Titern ist jedoch nicht möglich. Problematisch erweist sich aufgrund nicht-standardisierter Testseren die große Variabilität der HAI-Titer zwischen einzelnen Labors (Wood et al., 1994).

Als praktischen Nachteil des HAI stellte sich für ProPATient heraus, dass der Impf-erfolg für jeden der drei in der Impfung enthaltenen Stämme (beispielsweise A/New Caledonia/20/99 (H1N1)) einzeln gemessen werden muss. Da die Patientenrekrutierung in drei aufeinanderfolgenden Impfsaisons mit jeweils unterschiedlichen Impfstoffzusammensetzungen erfolgte und eine Testadaptierung für jede Saison eine erhebliche Verkomplizierung bereitet hätte, wurde der in diesem Fall praktikablere ELISA-Test dem HAI vorgezogen.

Grundsätzlich ist beim ELISA-Test bei einem vierfachen Titeranstieg von einem Impf-erfolg auszugehen (Vedhara et al., 1999). Dies konnte nur bei einem Patienten in der Studienpopulation nachgewiesen werden. Daher muss eine reduzierte quantitative Impf-antwort bei dem Studienkollektiv postuliert werden.

Die Mehrzahl der Studien, die sich mit der Influenza-Impfung bei Immunsupprimierten oder chronisch Kranken beschäftigt haben, untersuchte als primären Endpunkt das humorale Ansprechen. Beck et al. fassten in einer Meta-Analyse die Ergebnisse von 209 Studien zur Influenza-Impfung und der Prävention einer Influenza oder Influenza-ähnlicher-Erkrankungen, dem serologischen Ansprechen und/ oder unerwünschten Ereignissen bei immunsupprimierten Patienten zusammen (Beck et al., 2011). Die Mehrheit der untersuchten Studien wurde bei HIV-Patienten (58 Studien), Krebspatienten (56) und Organtransplantierten (52) durchgeführt. Es zeigte sich unter Berücksichtigung aller Studien eine höhere Chance auf eine Serokonversion bei geimpften gegenüber nicht-geimpften oder Placebo-geimpften Kontrollpersonen. Einen signifikanten Anstieg der Serokonversionsraten ließ sich jedoch nur für Influenza B nachweisen. Im Vergleich mit geimpften, gesunden Kontrollpersonen zeigte sich in allen Impfstämmen signifikant

geringere Chancen sowohl auf eine Serokonversion als auch Seroprotektion. Die Ergebnisse sind daher insgesamt vereinbar mit unseren Daten und dem gezeigten besseren Ansprechen auf Influenza B sowie einem generell reduziertem Titeranstieg in der Verumgruppe.

Da in der Übersichtsarbeit die Ergebnisse nicht nach Entität der Immunsuppression, sondern nur im Gesamtkollektiv berechnet wurden, listet Tabelle 18 die bei Beck et al. eingeschlossenen Studien mit Patientenzahlen, Grunderkrankungen und Hauptergebnissen bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen auf. Bei der Mehrheit handelt es sich um kontrollierte, nicht-randomisierte Therapiestudien mit Klasse-IIb-Evidenz (nach Guyatt et al., 2008) bei der rheumatoiden Arthritis oder dem SLE. Zwar traten bei Chalmers et al. in einer von zwei RCT bei Patienten mit RA zwischen Patienten mit oder ohne medikamentöse Immunsuppression keine Unterschiede im Impfansprechen auf (Chalmers et al., 1994), jedoch zeigt sich bei der Mehrzahl der Studien ein vermindertes Impfansprechen (s. Tabelle 18). Verdeutlicht wird dies durch das einheitlich verminderte Ansprechen unter einer eskalierten Immunsuppression mit sogenannten „Biologicals“ wie Rituximab (Gelinck et al., 2007; Oren et al., 2008; van Assen et al., 2010) oder TNF α -Inhibitoren (Gelinck et al., 2008; Salemi et al., 2010). Ein abgeschwächtes humorales Ansprechen ist bei Patienten mit SLE unter Behandlung mit Azathioprin besonders deutlich (Holvast et al., 2006). Auch bei ProPATient zeigte sich mit einem höheren Titeranstieg in drei von vier Ig-Klassen bei den nicht-immunsupprimierten Teilnehmern (n=6) gegenüber den Immunsupprimierten ein nicht-signifikanter Trend zu einer gesteigerten Antikörperreaktion.

Autoren	AID	n	Ergebnis	Evidenzgrad
(Abu-Shakra et al., 2002)	SLE	24	Klinische Sicherheit der Impfung; Kurzfristige Trigerung der Auto-Ak.Produktion	Ib
(Chalmers et al., 1994)	RA	126	Keine Häufung von AEs; signifikante Anti-Influenza-Titeranstiege	Ib
(Del Porto et al., 2006)	SLE + RA	24	Impfung ohne Einfluss auf Klinik, Auto-Ak; kein Unterschiede im Impfansprechen	Ib
(Fomin et al., 2006)	RA	82 (+30)	Impfung ohne Einfluss auf Klinik; Signifikant höhere Anti-Influenza-Ak bei Kontrollen	Ib
(Gelinck et al., 2007)	RA	23 (+20)	Reduziertes Impfansprechen unter RTX	Ib
(Gelinck et al., 2008)	RA	112 (+18)	Reduziertes Impfansprechen unter TNF- α -Inhibitoren	Ib
(Holvast et al., 2009b)	SLE	52 (+28)	Kein besseres Impfansprechen durch Booster-Impfung	Ib
(Holvast et al., 2009c)	SLE	54 (+54)	Reduziertes Impfansprechen	Ib
(Kaine et al., 2007)	RA	n.a.	Influenza- und Pneumokokkenimpfung bei Patienten unter Adalimumab-Therapie oder Plazebo ohne Unterschiede im Impfansprechen	Ib
(Kapetanovic et al., 2007)	RA	149 (+18)	Besseres Impfansprechen unter MTX als unter TNF- α -Inhibitoren \pm MTX	Ib
(Louie et al., 1978)	SLE	11 (+8)	Kein Unterschied im Impfansprechen	Ib
(Lu et al., 2011)	SLE	21 (+15)	A/H1N1-Impfung ohne klinische Verschlechterung und mit vergleichbaren Impfansprech-raten	Ib
(Mercado et al., 2004)	SLE	18 (+18)	Reduziertes Impfansprechen	Ib
(Oren et al., 2008)	RA	43 (+21)	Signifikant geringeres Impfansprechen unter RTX	Ib
(Ristow et al., 1978)	SLE	29 (+29)	Reduziertes Impfansprechen	Ib
(Salemi et al., 2010)	RA	28	Reduziertes Impfansprechen auf Influenza B unter TNF- α -Inhibitoren	Ib
(van Assen et al., 2010)	RA	43 (+29)	Reduziertes Impfansprechen unter RTX	Ib
(Wiesik-Szewczyk et al., 2010)	SLE	62 (+47)	Reduziertes Impfansprechen; Anstieg der ANA-Titer ohne Einfluss auf Krankheitsaktivität	Ib

Tabelle 18: Darstellung prospektiver Studien bei Influenza-Impfung und Autoimmunerkrankungen (AID) bei Erwachsenen aus der Meta-Analyse von (Beck et al., 2011). n=Zahl eingeschlossener Patienten, Zahlen in Klammern=Anzahl gesunder Kontrollpersonen. RTX = Rituximab. MTX=Methotrexat; Evidenzgrade nach (Guyatt et al., 2008)

Wie mehrere Übersichtsarbeiten empfehlen, sollte immunkompromittierten Patienten eine Impfung nicht vorenthalten werden, da das Sicherheitsprofil der Impfung im Allgemeinen gut ist. Demgegenüber steht das häufig beobachtete verminderte Ansprechen auf die Impfung (Beck et al., 2011; Brydak und Machala, 2000; Holvast et al., 2007; Kunisaki und Janoff, 2009; Opstelten et al., 2009).

Neben der medikamentösen Immunsuppression werden im Folgenden weitere Ursachen eines möglicherweise reduzierten quantitativen Impferfolges bei der Studienpopulation diskutiert:

1.) Ein weiterer möglicher Einflussfaktor stellt das Alter des Studienkollektivs dar. Bereits 35 der 62 Teilnehmer waren über 60 Jahre und aufgrund dessen bereits innerhalb der von der STIKO empfohlenen Impfindikationen. Eine aktuelle Meta-Analyse zum humoralen Ansprechen der Influenza-Impfung zeigte eine signifikant reduzierte Chance auf eine Seroprotektion und Serokonversion bei Patienten älter als 60 Jahre im Vergleich zu jüngeren Erwachsenen (Seidman et al., 2012). Zudem fallen Antikörpertiter bei Patienten über 65 Jahren signifikant schneller ab als bei jüngeren (Song et al., 2010). Remarque et al. gehen davon aus, dass das unterschiedliche Ansprechen nicht an der Alterung des Immunsystems an sich liegt, sondern durch verschiedene Prägungen des Immunsystems (Priming) und damit Vorimpfungen und vorangegangene Infektionen verursacht sind (Remarque et al., 1998).

Eine Meta-Analyse kam zu dem Ergebnis, dass bei älteren Personen eine klinische Wirksamkeit der Influenzaimpfung in nur 17 bis 53% der Fälle vorliegt gegenüber 70 bis 90% bei Jüngeren (Goodwin et al., 2006). Verdeutlicht wird dies in Hinblick auf die Influenza-assoziierte Mortalität, da mehr als 90% der Todesfälle bei Patienten über 65 Jahre auftreten (Simonsen et al., 2005).

2.) Hohe Influenza-Ak-Titer vor einer Impfung korrelieren signifikant mit der Chance, eine Seroprotektion zu erreichen, umgekehrt besteht jedoch eine inverse Korrelation zwischen hohen Ausgangstitern und der Chance auf eine Serokonversion (Feng et al., 2009; Seidman et al., 2012). Dies lässt sich auch für unser Studienkollektiv nachvollziehen (s. Abbildungen 10 A-D): Es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit relativ hohen und im ELISA-Test positiven Ausgangstitern einen schwächeren Anstieg der Antikörpertiter in den Unterklassen Influenza-A - und B-IgG aufwiesen und umgekehrt. Insgesamt lässt sich die scheinbare Diskrepanz zwischen hoher Seroprotektionsrate und

niedriger Serokonversionsrate dadurch erklären, dass Individuen mit bereits hohen Ausgangstitern leicht den Seroprotektionsschwellenwert, jedoch keinen vierfachen Titeranstieg erreichen (Seidman et al., 2012).

3.) Bei hohen Ausgangstitern stellt sich die Frage, inwiefern Vorimpfungen einen Einfluss auf den Titeranstieg nehmen. Es wurde bereits ein signifikant schwächerer Titeranstieg bei im Vorjahr geimpften gegenüber impfnaiven Patienten beschrieben (de Bruijn et al., 1999). Die Protektion vor einer Infektion scheint hierdurch aber nicht beeinträchtigt (Keitel et al., 1997). In der vorliegenden Arbeit wurde bei den Teilnehmern nicht der Status an Vorimpfungen erhoben. Jedoch zeigten sich bei einer Mehrheit der Teilnehmer bereits positive Influenza-A-IgG (30 von 31 in der Impfgruppe) und B-IgG (18/31) ELISA-Titer, was entweder mit durchgemachten Infektionen oder früheren Impfungen zu erklären ist.

4.) In der Studie wurden drei verschiedene Impfstoffzusammensetzungen verwendet. Ein signifikanter Unterschied zwischen dem mittleren Titeranstieg und der Impfsaison ließ sich nicht feststellen. Die WHO veröffentlicht jährlich einen Bericht über die zirkulierenden Influenza-Viren, die Empfehlungen der neuen Impfstoffzusammensetzung und die Ansprechraten des zuletzt verwendeten Impfstoffes bei Kindern, Erwachsenen und Älteren. Tabelle 19 zeigt die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Impfstoffzusammensetzung mit mittlerem Titeranstieg und das von der WHO publizierte Ansprechen (hier Prozent mit HAI-Titer >40 nach Impfung) (WHO, 2007; WHO, 2008). Es fällt auf, dass sowohl in der vorliegenden Arbeit als auch in den von der WHO publizierten Daten ein schwächeres Ansprechen auf den 06/07-Impfstoff gegenüber dem nachfolgenden Jahr vorliegt.

Möglicherweise spielt hierbei eine bisher nicht hinreichend belegte Hypothese der „antigenic distance“ eine Rolle. Demnach werden die geimpften Antigene durch residuell vorhandene spezifische Antikörper gebunden, wodurch die erneute Antikörperproduktion ausbleibt (Smith et al., 1999). Von der Saison 2000/2001 bis zur Saison 2006/2007 war der H1N1-Stamm New Caledonia durchgehend Teil des trivalenten Impfstoffes und damit einer der häufigsten zirkulierenden Stämme. Man kann daher eine Prägung des Immunsystems entweder durch Impfung oder Infektion bei einer relevanten Anzahl einer Population postulieren. Dadurch könnte das sowohl im Studienkollektiv als auch in der Allgemeinbevölkerung verminderte Ansprechen auf Influenza A in der Saison 06/07

erklärt werden. Der in 07/08 verwendete Stamm A/Solomon Islands weist eine genetische Ähnlichkeit zu A/New Caledonia auf (Liechti et al., 2010). Zu diskutieren ist aufgrund teilweise bestehender Kreuzreaktivität („homotypic immunity“ (Couch, 2003)) dass es deswegen nur zu einem Anstieg der anti-Influenza IgA kam. IgA lässt sich bevorzugt als Ausdruck der lokalen Immunität in Speichel nachweisen. In der Regel kommt es etwa zwei Wochen nach einer Influenza-Impfung vor allem zum Anstieg von IgG-Antikörpern im Serum (Cox et al., 2004). Bei ausreichenden Serum-IgG-Spiegeln findet eine Transsudation in die Schleimhautsekrete statt (Wagner et al., 1987). Sezerniertes IgA scheint im Bereich des oberen Respirationstraktes protektiv zu wirken, wohingegen der Nachweis von lokalem IgG mit einem pulmonalen Schutz einhergeht (Renegar et al., 2004). Da die nachgewiesenen IgA-Titer in einem sehr niedrigen Bereich nachweisbar waren mit nur wenigen positiven ELISA-Titern, ist die klinische Relevanz des gemessenen MFI bei Influenza-A-IgA fragwürdig.

Impf-saison	Infl-A IgA	Infl-A IgG	Infl-B IgA	Infl-B IgG	H1N1	H3N2	B
06/07 n=9	1,45 (±0,69)	1,04 (±0,39)	1,01 (±0,44)	1,34 (±0,52)	A/New Caledonia <i>HAI>40</i> <i>59,68,53%</i>	A/Wisconsin <i>HAI>40</i> <i>62,83,88%</i>	B/Malaysia <i>HAI >40</i> <i>32,74,73%</i>
07/08 n=13	1,83 (±1,63)	0,99 (±0,27)	1,20 (±0,53)	1,57 (±1,12)	A/Solomon Islands <i>HAI>40</i> <i>98,93,84%</i>	A/Wisconsin <i>HAI >40</i> <i>92,91,88%</i>	B/Malaysia <i>HAI>40</i> <i>75,80,63%</i>
08/09 n=9	1,19 (±0,25)	1,26 (±0,51)	1,03 (±0,27)	1,22 (±0,24)	A/Brisbane	A/Brisbane	B/Florida

Tabelle 19: Verwendete Impfstoffzusammensetzungen mit mittlerem Titeranstieg in der vorliegenden Arbeit. Zum Vergleich die Prozentsätze an Kindern, Erwachsenen und Älteren, die laut WHO einen HAI-Titer > 40 nach Impfung generierten. Für die 2008/2009er Saison liegen keine Daten vor (WHO, 2007; WHO, 2008).

In der Saison 08/09 konnte ein stärkerer InfluenzaA-IgG-Anstieg gefunden werden (MFI 1,26). H1N1 A/Brisbane weist gegenüber den in den Vorsaisons geimpften Stämmen eine größere genetische Diversität auf (Liechti et al., 2010). Daher ließe sich

das verbesserte Ansprechen hierbei ebenfalls durch die „antigenic distance“ erklären. Dass sich zudem in der 08/09-Impfung der H3N2-Stamm gegenüber dem Vorjahr änderte, kann eine weitere Ursache für das bessere Ansprechen sein.

5.3 Ausblick

Durch die vorliegende Arbeit konnte die klinische Sicherheit einer einmaligen saisonalen Influenzaimpfung bei Patienten mit autoimmuner MG belegt werden.

Es wurde gezeigt, dass die Ergebnisse der ProPATient-Studie vereinbar mit (in der Regel unkontrollierten) Studien bei chronisch Kranken und Immunsuprimierten sind, bei denen sich insgesamt kein Anhalt für eine Verschlechterung der Grunderkrankung oder eine schlechtere Verträglichkeit der Influenza-Impfung ergab (Salemi und D'Amelio, 2010a). Auch dies ist ein Grund für die sukzessive Erweiterung der Impfeempfehlungen der STIKO. Die H1N1-Pandemie 2009/2010 hat verdeutlicht, dass insbesondere Patienten mit neurologischen Grunderkrankungen (hierbei v.a. neuromuskuläre Erkrankungen, (Gilca et al., 2011)) ein Risikokollektiv für schwere Krankheitsverläufe bei einer Influenzainfektion darstellen (Jain et al., 2009).

Die Ergebnisse der ProPATient-Studie besitzen für die Betroffenen und deren behandelnde Ärzte eine große klinische Relevanz. Gerade durch die absolut kontraindizierte Gabe von Lebendimpfstoffen bei immunsupprimierten Patienten (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2012) sind viele Betroffene gegenüber Impfungen zurückhaltend eingestellt, was sich auch während der Rekrutierungsphase zeigte (vgl. Kapitel 4.1). Eine Impfung bei MG ist nach aktueller Datenlage nicht nur unschädlich, sondern aufgrund der Gefahr eines schweren Verlaufs einer Influenza und der Gefahr einer Exazerbation der MG unbedingt indiziert.

Wie Auriel et al. für MG-Patienten postulieren, ist die bisherige Impfcompliance bei der Influenza-Impfung unzureichend (Auriel et al., 2011). Impfraten über 40% werden bei Autoimmunerkrankungen und chronisch rheumatischen Erkrankungen nur selten erreicht (Glück und Müller-Ladner, 2008). Hier herrscht bei Patienten und behandelnden Ärzten weiterhin Aufklärungsbedarf über die protektiven Effekte und geringen Risiken der Influenza-Impfung.

Die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf ähnliche Impfungen mit Totimpfstoffen kann nicht automatisch vollzogen werden. Jedoch erlangt vor allem die Pneumokokken-Impfung einen der Influenza-Impfung vergleichbaren Stellenwert, da auch diese bei älteren Patienten und chronisch Kranken empfohlen wird und der Verhinderung einer akuten Pneumonie oder Meningitis durch Pneumokokken dient (RKI, 2012). Studien zur Pneumokokken-Impfung bei MG existieren nicht. Wenige Arbeiten bei anderen Autoimmunerkrankungen attestieren der Pneumokokken-Impfung klinische Sicherheit (Elkayam et al., 2002; Klippel et al., 1979).

Trotz der signifikanten immunologischen Reaktion auf die Influenza-Impfung bei MG-Patienten muss von einem reduzierten humoralen Ansprechen und damit möglicherweise geringeren Protektionsraten ausgegangen werden. Wie dargestellt wurde, scheint die verminderte Impfantwort multifaktoriell und nicht ausschließlich durch die medikamentöse Immunsuppression bedingt zu sein. Neben den genannten Punkten spielen insbesondere ein Priming des Immunsystems und die jeweilige Impfstoffzusammensetzung eine Rolle. Wie zuvor aufgezeigt, stellt die verminderte Impfantwort ein signifikant häufiger beobachtetes Problem bei ähnlichen Patientenkollektiven dar.

Hauptsächlich zwei Impfstrategien wurden zur Verbesserung des humoralen Ansprechens untersucht. Zum einen erhöhte die Applikation einer zweiten, sogenannten „Booster-Impfung“ einige Wochen nach der ersten Impfung signifikant die Chance auf eine Seroprotektion (Odds Ratio 1.2–2.1, $p < 0.01$) und Serokonversion (Odds Ratio 1.8–2.7, $p < 0.01$) in der Allgemeinbevölkerung (Seidman et al., 2012). Auch wenn bei Lebertransplantierten ein positiver Effekt auf eine zweite Impfung feststellbar war (Soesman et al., 2000), ließ sich dies bei HIV-Erkrankten (Kroon et al., 1994), SLE- (Holvast et al., 2009b) und Dialyse-Patienten (Tanzi et al., 2007) nicht nachweisen, so dass bei Immunsupprimierten dieses Vorgehen weiterer Evaluation bedarf.

Als weitere Möglichkeit zur Steigerung der Immunogenität bieten sich Grippeimpfstoffe mit Adjuvantien wie das Öl-in-Wasser-basierte MF59- oder AS03-Adjuvans an. Das Adjuvans löst hierbei eine verstärkte lokale Immunreaktion an der Einstichstelle aus, wodurch es zu einer Beschleunigung und Verstärkung der Impfantwort kommt (Tsai, 2011). Als Vorteilhaft stellten sich diese im Allgemeinen bei Patienten mit geringer Restimmunität (Älteren) oder fehlender Grundimmunisierung (Kinder) dar (Haas, 2009). Insgesamt zeigte sich mit der Verwendung von Adjuvantien ein geringeres An-

sprechen bei Influenza B-Stämmen als bei Influenza A (Seidman et al., 2012). Zusätzliche Bedeutung gewann die Verwendung der Adjuvantien während der H1N1-Pandemie 2009/2010 als Wirkstoffbeschleuniger (Clark et al., 2009). Zur saisonalen Influenza-Impfung mit Adjuvantien im Vergleich zur konventionellen Impfung liegen bisher keine Daten bei Autoimmunerkrankungen vor.

Aufgrund des nunmehr nachgewiesenen günstigen Sicherheitsprofils der konventionellen Impfung bietet sich zur weiteren Untersuchung des Impfansprechens bei MG-Patienten die Durchführung einer weiteren prospektiven Studie mit Applikation einer Booster-Impfung an.

Literaturverzeichnis

- Abu-Shakra, M., Press, J., Buskila, D., Sukenik, S., 2007. Influenza vaccination of patients with systemic lupus erythematosus: safety and immunogenicity issues. *Autoimmun Rev* 6, 543-546.
- Abu-Shakra, M., Press, J., Sukenik, S., Buskila, D., 2002. Influenza virus vaccination of patients with SLE: effects on generation of autoantibodies. *Clin Rheumatol* 21, 369-372.
- Alpert, L., Papatestas, A., Kark, A., Osserman, R., Osserman, K., 1971. A histologic reappraisal of the thymus in myasthenia gravis. A correlative study of thymic pathology and response to thymectomy. *Arch Pathol* 91, 55-61.
- Alshekhlee, A., Miles, J.D., Katirji, B., Preston, D.C., Kaminski, H.J., 2009. Incidence and mortality rates of myasthenia gravis and myasthenic crisis in US hospitals, *Neurology* 18, 1548-1554.
- Andrews, P., Massey, J., Howard, J.J., Sanders, D., 1994. Race, sex, and puberty influence onset, severity, and outcome in juvenile myasthenia gravis. *Neurology* 44, 1208-1214.
- Aoki, F.Y., Boivin, G., Roberts, N., 2007. Influenza virus susceptibility and resistance to oseltamivir. *Antivir Ther* 12, 603-616.
- Aragonès, J., Bolívar, I., Bonfill, X., Bufill, E., Mummamy, A., Alonso, F., Illa, I., 2003. Myasthenia gravis: a higher than expected incidence in the elderly. *Neurology* 60, 1024-1026.
- Arbeitsgemeinschaft Influenza, 2009. Abschlussbericht der Influenzasaison 2008/09, Berlin.
- Auriel, E., Regev, K., Dori, A., Karni, A., 2011. Safety of influenza and H1N1 vaccinations in patients with myasthenia gravis, and patient compliance. *Muscle Nerve* 43, 893-894.
- Balandina, A., Lecart, S., Darteville, P., Saoudi, A., Berrih-Aknin, S., 2005. Functional defect of regulatory CD4(+)CD25+ T cells in the thymus of patients with autoimmune myasthenia gravis, *Blood* 2, 735-741.

- Baldwin, T.A., Hogquist, K.A., Jameson, S.C., 2004. The fourth way? Harnessing aggressive tendencies in the thymus. *Journal of Immunology* 173, 6515-6520.
- Barohn, R., Herbelin, L., 2000. The Quantitative Myasthenia Gravis (QMG) Test, The Manual. <http://www.myasthenia.org/LinkClick.aspx?fileticket=9U5kP6SfCJs%3D&tabid=125>
- Barohn, R., McIntire, D., Herbelin, L., Wolfe, G., Nations, S., Bryan, W., 1998. Reliability testing of the quantitative myasthenia gravis score. *Ann N Y Acad Sci* 841, 769-772.
- Bean, B., Moore, B.M., Sterner, B., Peterson, L.R., Gerding, D.N., Balfour, H.H., 1982. Survival of Influenza-Viruses on environmental surfaces. *Journal of Infectious Diseases* 146, 47-51.
- Beck, C.R., McKenzie, B.C., Hashim, A.B., Harris, R.C., Zanuzdana, A., Agboado, G., Orton, E., Bechard-Evans, L., Morgan, G., Stevenson, C., Weston, R., Mukaigawara, M., Enstone, J., Augustine, G., Butt, M., Kim, S., Puleston, R., Dabke, G., Howard, R., O'Boyle, J., O'Brien, M., Ahyow, L., Denness, H., Farmer, S., Figureroa, J., Fisher, P., Greaves, F., Haroon, M., Haroon, S., Hird, C., Isba, R., Ishola, D.A., Kerac, M., Parish, V., Roberts, J., Rosser, J., Theaker, S., Wallace, D., Wigglesworth, N., Lingard, L., Vinogradova, Y., Horiuchi, H., Penalver, J., Nguyen-Van-Tam, J.S., 2011. Influenza vaccination for immunocompromised patients: systematic review and meta-analysis from a public health policy perspective, *PLoS One* 12, e29249.
- Bedlack, R., Simel, D., Bosworth, H., Samsa, G., Tucker-Lipscomb, B., Sanders, D., 2005. Quantitative myasthenia gravis score: assessment of responsiveness and longitudinal validity. *Neurology* 64, 1968-1970.
- Behera, M., Kumar, A., Soares, H.P., Sokol, L., Djulbegovic, B., 2007. Evidence-based medicine for rare diseases: implications for data interpretation and clinical trial design. *Cancer Control* 14, 160-166.
- Bergström, K., Franksson, C., Matell, G., Nilsson, B., Persson, A., von Reis, G., Stensman, R., 1975. Drainage of thoracic duct lymph in twelve patients with myasthenia gravis. *Eur Neurol* 13, 19-30.
- Besinger, U., Toyka, K., Hömberg, M., Heininger, K., Hohlfeld, R., Fatch-Moghadam, A., 1983. Myasthenia gravis: long-term correlation of binding and bungarotoxin blocking antibodies against acetylcholine receptors with changes in disease severity. *Neurology* 33, 1316-1321.

- Beyer, W., de Bruijn, I., Palache, A., Westendorp, R., Osterhaus, A., 1999. Protection against influenza after annually repeated vaccination: a meta-analysis of serologic and field studies. *Arch Intern Med* 159, 182-188.
- BGBI. I, B., 2003. Bundesdatenschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 14.01.2003 (BGBI. I S. 66).
- BGBI. I, B., 2005. Arzneimittelgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 12. Dezember 2005 (BGBI. I, S. 2445, 2448, 2192 ff., 2216).
- Biron, P., Montpetit, P., Infante-Rivard, C., Lery, L., 1988. Myasthenia gravis after general anesthesia and hepatitis B vaccine. *Arch Intern Med* 148, 2685.
- Blalock, A., Harvey, A.M., Ford, F.R., Lilienthal, J.L., 1941. The treatment of myasthenia gravis by removal of the thymus gland - Preliminary report. *Journal of the American Medical Association* 117, 1529-1533.
- Boehm, T., 2008. Thymus development and function, *Curr Opin Immunol* 2, 178-184.
- Bouvier, N.M., Palese, P., 2008. The biology of influenza viruses. *Vaccine* 26, D49-D53.
- Bridges, C., Thompson, W., Meltzer, M., Reeve, G., Talamonti, W., Cox, N., Lilac, H., Hall, H., Klimov, A., Fukuda, K., 2000. Effectiveness and cost-benefit of influenza vaccination of healthy working adults: A randomized controlled trial. *JAMA* 284, 1655-1663.
- Brydak, L., Machala, M., 2000. Humoral immune response to influenza vaccination in patients from high risk groups. *Drugs* 60, 35-53.
- Bullough, P.A., Hughson, F.M., Skehel, J.J., Wiley, D.C., 1994. Structure of influenza haemagglutinin at the pH of membrane fusion. *Nature* 371, 37-43.
- Bundesjustizministerium, 2005. Arzneimittelgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 12. Dezember 2005 (BGBI. I S. 3394).
- Cate, T.R., 1987. Clinical manifestations and consequences of Influenza. *American Journal of Medicine* 82, 15-19.
- Chalmers, A., Scheifele, D., Patterson, C., Williams, D., Weber, J., Shuckett, R., Teufel, A., 1994. Immunization of patients with rheumatoid arthritis against influenza: a study of vaccine safety and immunogenicity. *J Rheumatol* 21, 1203-1206.

- Chen, G., Marx, A., Wen-Hu, C., Yong, J., Puppe, B., Stroebel, P., Mueller-Hermelink, H., 2002. New WHO histologic classification predicts prognosis of thymic epithelial tumors: a clinicopathologic study of 200 thymoma cases from China. *Cancer* 95, 420-429.
- Chen, R., Pless, R., Destefano, F., 2001. Epidemiology of autoimmune reactions induced by vaccination. *J Autoimmun* 16, 309-318.
- Chhor, V., Lescot, T., Lerolle, N., Tadie, J.M., Guerot, E., 2008. Acute meningoencephalitis after influenza vaccination. *Ann Fr Anesth Reanim* 27, 169-171.
- Ciafaloni, E., Sanders, D.B., 2002. Advances in myasthenia gravis. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2, 89-95.
- Clark, T.W., Pareek, M., Hoschler, K., Dillon, H., Nicholson, K.G., Groth, N., Stephenson, I., 2009. Trial of 2009 influenza A (H1N1) monovalent MF59-adjuvanted vaccine, *N Engl J Med* Vol. 25, 2009 Massachusetts Medical Society, United States, pp. 2424-2435.
- Cohen, M.S., Younger, D., 1981. Aspects of the natural history of myasthenia gravis-crisis and death. *Annals of the New York Academy of Sciences* 377, 670-677.
- Compston, D., Vincent, A., Newsom-Davis, J., Batchelor, J., 1980. Clinical, pathological, HLA antigen and immunological evidence for disease heterogeneity in myasthenia gravis. *Brain* 103, 579-601.
- Conti-Fine, B., Milani, M., Kaminski, H., 2006. Myasthenia gravis: past, present, and future. *J Clin Invest* 116, 2843-2854.
- Couch, R.B., 2003. An overview of serum antibody responses to influenza virus antigens. *Dev Biol* 115, 25-30.
- Cox, R.J., Brokstad, K.A., Ogra, P., 2004. Influenza virus: immunity and vaccination strategies. Comparison of the immune response to inactivated and live, attenuated influenza vaccines. *Scand J Immunol* 59, 1-15.
- CPMP, Committee for Proprietary Medicinal Products, 1997. Note for Guidance on Harmonisation of Requirements for Influenza Vaccines. <http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/bwp/021496en.pdf>
- Dau, P.C., Lindstrom, J.M., Cassel, C.K., Denys, E.H., Shev, E.E., Spitler, L.E., 1977. Plasmapheresis and immunosuppressive drug therapy in myasthenia gravis. *N Engl J Med* 297, 1134-1140.

- de Bruijn, I.A., Remarque, E.J., Jol-van der Zijde, C.M., van Tol, M.J., Westendorp, R.G., Knook, D.L., 1999. Quality and quantity of the humoral immune response in healthy elderly and young subjects after annually repeated influenza vaccination. *J Infect Dis* 179, 31-36.
- De Serres, G., Grenier, J., Toth, E., Ménard, S., Roussel, R., Tremblay, M., Fradet, M., Landry, M., Robert, Y., Skowronski, D., 2003. The clinical spectrum of the oculo-respiratory syndrome after influenza vaccination. *Vaccine* 21, 2354-2361.
- De Simone, C., Caldarola, G., D'Agostino, M., Zampetti, A., Amerio, P., Feliciani, C., 2008. Exacerbation of pemphigus after influenza vaccination. *Clin Exp Dermatol* 33, 718-720.
- Del Porto, F., Lagana, B., Biselli, R., Donatelli, I., Campitelli, L., Nisini, R., Cardelli, P., Rossi, F., D'Amelio, R., 2006. Influenza vaccine administration in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Safety and immunogenicity. *Vaccine* 24, 3217-3223.
- Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2005. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie, 3. Auflage :Thieme, Stuttgart
- Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2012. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie, 5. Auflage :Thieme, Stuttgart.
- Deyde, V., Garten, R., Sheu, T., Smith, C., Myrick, A., Barnes, J., Xu, X., Shaw, M., Klimov, A., Gubareva, L., 2009. Genomic events underlying the changes in adamantane resistance among influenza A(H3N2) viruses during 2006-2008. *Influenza Other Respi Viruses* 3, 297-314.
- DMG-Online, <http://www.dmg-online.de/artikelDetail.php?id=117>.
- Elkayam, O., Paran, D., Caspi, D., Litinsky, I., Yaron, M., Charboneau, D., Rubins, J.B., 2002. Immunogenicity and safety of pneumococcal vaccination in patients with rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus, *Clin Infect Dis* 2, 147-153.
- Engel, A., Lambert, E., Howard, F., 1977. Immune complexes (IgG and C3) at the motor end-plate in myasthenia gravis: ultrastructural and light microscopic localization and electrophysiologic correlations. *Mayo Clin Proc* 52, 267-280.
- Engel, A.G., Arahata, K., 1987. The Membrane Attack Complex of Complement at the Endplate in Myasthenia-Gravis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 505, 326-332.

- EU, European Parliament, 1999. Regulation (EC) No 141/2000 of the European Parliament and of the Council of 16 December 1999 on orphan medicinal products
- Fambrough, D.M., Drachman, D.B., Satyamur, S., 1973. Neuromuscular junction in Myasthenia-Gravis - Decreased Acetylcholine Receptors. *Science* 182, 293-295.
- Feng, J., Gulati, U., Zhang, X., Keitel, W.A., Thompson, D.M., James, J.A., Thompson, L.F., Air, G.M., 2009. Antibody quantity versus quality after influenza vaccination. *Vaccine* 27, 6358-6362.
- Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M., 2007. *Fields' virology*. Wolters kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Fiore, A., Bridges, C., Cox, N., 2009a. Seasonal influenza vaccines. *Curr Top Microbiol Immunol* 333, 43-82.
- Fiore, A., Shay, D., Broder, K., Iskander, J., Uyeki, T., Mootrey, G., Bresee, J., Cox, N., 2009b. Prevention and control of seasonal influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2009. *MMWR Recomm Rep* 58, 1-52.
- Fiore, A.E., Uyeki, T.M., Broder, K., Finelli, L., Euler, G.L., Singleton, J.A., Iskander, J.K., Wortley, P.M., Shay, D.K., Bresee, J.S., Cox, N.J., (CDC), C.f.D.C.a.P., 2010. Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. *MMWR Recomm Rep* 59, 1-62.
- Fischer, J.E., Bland, K.I., 2007. *Mastery of surgery*. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Fomin, I., Caspi, D., Levy, V., Varsano, N., Shalev, Y., Paran, D., Levartovsky, D., Litinsky, I., Kaufman, I., Wigler, I., Mendelson, E., Elkayam, O., 2006. Vaccination against influenza in rheumatoid arthritis: the effect of disease modifying drugs, including TNF alpha blockers, *Ann Rheum Dis* 2, 191-194.
- Fouchier, R.A., Munster, V., Wallensten, A., Bestebroer, T.M., Herfst, S., Smith, D., Rimmelzwaan, G.F., Olsen, B., Osterhaus, A.D., 2005. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls, *J Virol* 5, 2814-2822.
- Francis, T., Salk, J., Pearson, H., Brown, P., 1945. Protective effect of vaccination against induced Influenza A. *J Clin Invest* 24, 536-546.

- Gajdos, P., Chevret, S., Clair, B., Tranchant, C., Chastang, C., 1997. Clinical trial of plasma exchange and high-dose intravenous immunoglobulin in myasthenia gravis. *Annals of Neurology* 41, 789-796.
- GCP-Verordnung, 2004. Verordnung über die Anwendung der Guten Klinischen Praxis bei der Durchführung von klinischen Prüfungen mit Arzneimitteln zur Anwendung am Menschen, <http://www.gesetze-im-internet.de/gcpv/BJNR208100004.html>.
- Gelinck, L.B., Teng, Y.K., Rimmelzwaan, G.F., van den Bemt, B.J., Kroon, F.P., van Laar, J.M., 2007. Poor serological responses upon influenza vaccination in patients with rheumatoid arthritis treated with rituximab, *Ann Rheum Dis* 10, 1402-1403.
- Gelinck, L.B., van der Bijl, A.E., Beyer, W.E., Visser, L.G., Huizinga, T.W., van Hogezaand, R.A., Rimmelzwaan, G.F., Kroon, F.P., 2008. The effect of anti-tumour necrosis factor alpha treatment on the antibody response to influenza vaccination, *Ann Rheum Dis* 5, 713-716.
- Gilca, R., De Serres, G., Boulianne, N., Ouhoumane, N., Papenburg, J., Douville-Fradet, M., Fortin, E., Dionne, M., Boivin, G., Skowronski, D.M., 2011. Risk factors for hospitalization and severe outcomes of 2009 pandemic H1N1 influenza in Quebec, Canada. *Influenza Other Respi Viruses* 5, 247-255.
- Glück, T., Müller-Ladner, U., 2008. Vaccination in patients with chronic rheumatic or autoimmune diseases. *Clin Infect Dis* 46, 1459-1465.
- Gold, R., Buttgereit, F., Toyka, K.V., 2001. Mechanism of action of glucocorticosteroid hormones: possible implications for therapy of neuroimmunological disorders. *Journal of Neuroimmunology* 117, 1-8.
- Gold, R., Hohlfeld, R., Toyka, K.V., 2008. Progress in the treatment of myasthenia gravis. *Ther Adv Neurol Disord* 1, 36-51.
- Goodwin, K., Viboud, C., Simonsen, L., 2006. Antibody response to influenza vaccination in the elderly: a quantitative review. *Vaccine* 24, 1159-1169.
- Grob, D., Brunner, N., Namba, T., Pagala, M., 2008. Lifetime course of myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 37, 141-149.
- Gross, P., Ennis, F., Gaerlan, P., Denson, L., Denning, C., Schiffman, D., 1977. A controlled double-blind comparison of reactogenicity, immunogenicity, and protective efficacy of whole-virus and split-product influenza vaccines in children. *J Infect Dis* 136, 623-632.

- Guyatt, G.H., Oxman, A.D., Vist, G.E., Kunz, R., Falck-Ytter, Y., Alonso-Coello, P., Schunemann, H.J., 2008. GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations, *BMJ* 7650, 924-926.
- Haas, W., 2009. *Influenza : Prävention, Diagnostik, Therapie und öffentliche Gesundheit*. Urban & Fischer in Elsevier, München.
- Hall, C.B., 2007. The spread of influenza and other respiratory viruses: complexities and conjectures, *Clin Infect Dis* 3, 353-359.
- Hannoun, C., Megas, F., Piercy, J., 2004. Immunogenicity and protective efficacy of influenza vaccination. *Virus Res* 103, 133-138.
- Hart, I.K., Sharshar, T., Sathasivam, S., 2009. Immunosuppressant drugs for myasthenia gravis. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 80, 5-6.
- HDSB, H.D., 1999. Hessisches Datenschutzgesetz (HDSG), <http://www.datenschutz.hessen.de/hdsg99.htm#p1>.
- Heldal, A.T., Owe, J.F., Gilhus, N.E., Romi, F., 2009. Seropositive myasthenia gravis: a nationwide epidemiologic study, *Neurology* 2, 150-151.
- Hill, M.E., Shiono, H., Newsom-Davis, J., Willcox, N., 2008. The myasthenia gravis thymus: a rare source of human autoantibody-secreting plasma cells for testing potential therapeutics, *J Neuroimmunol* 50-56.
- Hoch, W., McConville, J., Helms, S., Newsom-Davis, J., Melms, A., Vincent, A., 2001. Auto-antibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies. *Nat Med* 7, 365-368.
- Hohlfeld, R., 2006. Neuromuskuläre Endplatte. In: Siegenthaler, W., Blum, H.E. (Eds.), *Klinische Pathophysiologie*, Georg Thieme Verlag, pp. 1034-1036.
- Hohlfeld, R., Toyka, K.V., Besinger, U.A., Gerhold, B., Heininger, K., 1985. Myasthenia gravis: reactivation of clinical disease and of autoimmune factors after discontinuation of long-term azathioprine. *Ann Neurol* 17, 238-242.
- Hohlfeld, R., Toyka, K.V., Heininger, K., Grosse-Wilde, H., Kalies, I., 1984. Autoimmune human T lymphocytes specific for acetylcholine receptor. *Nature* 310, 244-246.
- Hohlfeld, R., Wekerle, H., 2008. Reflections on the intrathymic pathogenesis of myasthenia gravis. *Journal of Neuroimmunology* 201, 21-27.

- Holvast, A., Huckriede, A., Wilschut, J., Horst, G., De Vries, J.J., Benne, C.A., Kallenberg, C.G., Bijl, M., 2006. Safety and efficacy of influenza vaccination in systemic lupus erythematosus patients with quiescent disease. *Ann Rheum Dis* 65, 913-918.
- Holvast, A., Stegeman, C., Benne, C., Huckriede, A., Wilschut, J., Palache, A., Kallenberg, C., Bijl, M., 2009a. Wegener's granulomatosis patients show an adequate antibody response to influenza vaccination. *Ann Rheum Dis* 68, 873-878.
- Holvast, A., van Assen, S., de Haan, A., Huckriede, A., Benne, C.A., Westra, J., Palache, A., Wilschut, J., Kallenberg, C.G., Bijl, M., 2009b. Effect of a second, booster, influenza vaccination on antibody responses in quiescent systemic lupus erythematosus: an open, prospective, controlled study. *Rheumatology (Oxford)* 48, 1294-1299.
- Holvast, A., van Assen, S., de Haan, A., Huckriede, A., Benne, C.A., Westra, J., Palache, A., Wilschut, J., Kallenberg, C.G., Bijl, M., 2009c. Studies of cell-mediated immune responses to influenza vaccination in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 60, 2438-2447.
- Holvast, B., Huckriede, A., Kallenberg, C.G., Bijl, M., 2007. Influenza vaccination in systemic lupus erythematosus: safe and protective? *Autoimmun Rev* 6, 300-305.
- Howard, F.M., Lennon, V.A., Finley, J., Matsumoto, J., Elveback, L.R., 1987. Clinical correlations of antibodies that bind, block, or modulate human Acetylcholine-Receptors in Myasthenia-Gravis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 505, 526-538.
- Izurieta, H., Thompson, W., Kramarz, P., Shay, D., Davis, R., DeStefano, F., Black, S., Shinefield, H., Fukuda, K., 2000. Influenza and the rates of hospitalization for respiratory disease among infants and young children. *N Engl J Med* 342, 232-239.
- Jain, S., Kamimoto, L., Bramley, A.M., Schmitz, A.M., Benoit, S.R., Louie, J., Sugerman, D.E., Druckenmiller, J.K., Ritger, K.A., Chugh, R., Jasuja, S., Deutscher, M., Chen, S., Walker, J.D., Duchin, J.S., Lett, S., Soliva, S., Wells, E.V., Swerdlow, D., Uyeki, T.M., Fiore, A.E., Olsen, S.J., Fry, A.M., Bridges, C.B., Finelli, L., 2009. Hospitalized patients with 2009 H1N1 influenza in the United States, April-June 2009. *N Engl J Med* 361, 1935-1944.
- Jaretzki, A., Barohn, R., Ernstoff, R., Kaminski, H., Keesey, J., Penn, A., Sanders, D., 2000. Myasthenia gravis: recommendations for clinical research standards. Task Force of the Medical Scientific Advisory Board of the Myasthenia Gravis Foundation of America. *Neurology* 55, 16-23.

- Jefferson, T., Demicheli, V., Rivetti, D., Jones, M., Di Pietrantonj, C., Rivetti, A., 2006. Antivirals for influenza in healthy adults: systematic review. *Lancet* 367, 303-313.
- Jefferson, T., Di Pietrantonj, C., Al-Ansary, L.A., Ferroni, E., Thorning, S., Thomas, R.E., 2010a. Vaccines for preventing influenza in the elderly. *Cochrane Database Syst Rev*, CD004876.
- Jefferson, T., Di Pietrantonj, C., Rivetti, A., Bawazeer, G.A., Al-Ansary, L.A., Ferroni, E., 2010b. Vaccines for preventing influenza in healthy adults. *Cochrane Database Syst Rev*, CD001269.
- Jefferson, T., Jones, M., Doshi, P., Del Mar, C., 2009. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 339, b5106.
- Jefferson, T., Rivetti, D., Di Pietrantonj, C., Rivetti, A., Demicheli, V., 2007. Vaccines for preventing influenza in healthy adults. *Cochrane Database Syst Rev*, CD001269.
- Juel, V., Massey, J., 2007. Myasthenia gravis. *Orphanet J Rare Dis* 2, 44.
- Juel, V.C., 2009. Myasthenic crisis: Smoother sailing ahead. *European Journal of Neurology* 16, 775-776.
- Kaine, J.L., Kivitz, A.J., Birbara, C., Luo, A.Y., 2007. Immune responses following administration of influenza and pneumococcal vaccines to patients with rheumatoid arthritis receiving adalimumab, *J Rheumatol* 2, 272-279.
- Kalb, B., Matell, G., Pirskanen, R., Lambe, M., 2002. Epidemiology of myasthenia gravis: a population-based study in Stockholm, Sweden. *Neuroepidemiology* 21, 221-225.
- Kapetanovic, M.C., Saxne, T., Nilsson, J.A., Geborek, P., 2007. Influenza vaccination as model for testing immune modulation induced by anti-TNF and methotrexate therapy in rheumatoid arthritis patients, *Rheumatology (Oxford)* 4, 608-611.
- Keitel, W.A., Cate, T.R., Couch, R.B., Huggins, L.L., Hess, K.R., 1997. Efficacy of repeated annual immunization with inactivated influenza virus vaccines over a five year period. *Vaccine* 15, 1114-1122.
- Khanna, S., Porter, J.D., 2002. Conservation of synapse-signaling pathways at the extraocular muscle neuromuscular junction. *Neurobiology of Eye Movements: from Molecules to Behavior* 956, 394-396.

- Klippel, J.H., Karsh, J., Stahl, N.I., Decker, J.L., Steinberg, A.D., Schiffman, G., 1979. A controlled study of pneumococcal polysaccharide vaccine in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 22, 1321-1325.
- Konishi, T., Yoshiyama, Y., Takamori, M., Saida, T., 2005. Long-term treatment of generalised myasthenia gravis with FK506 (tacrolimus), *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 3, 448-450.
- Kroon, F.P., van Dissel, J.T., de Jong, J.C., van Furth, R., 1994. Antibody response to influenza, tetanus and pneumococcal vaccines in HIV-seropositive individuals in relation to the number of CD4+ lymphocytes. *AIDS* 8, 469-476.
- Kuks, J.B.M., Oosterhuis, H., Limburg, P.C., The, T.H., 1991. Anti-acetylcholine receptor antibodies decrease after thymectomy in patients with myasthenia gravis. Clinical correlations. *Journal of Autoimmunity* 4, 197-211.
- Kunisaki, K., Janoff, E., 2009. Influenza in immunosuppressed populations: a review of infection frequency, morbidity, mortality, and vaccine responses. *Lancet Infect Dis* 9, 493-504.
- Lauriola, L., Ranelletti, F., Maggiano, N., Guerriero, M., Punzi, C., Marsili, F., Bartoccioni, E., Evoli, A., 2005. Thymus changes in anti-MuSK-positive and -negative myasthenia gravis. *Neurology* 64, 536-538.
- Leape, L.L., 2002. Reporting of adverse events, *N Engl J Med* 20, 1633-1638.
- Lefvert, A., Bergström, K., Matell, G., Osterman, P., Pirskanen, R., 1978. Determination of acetylcholine receptor antibody in myasthenia gravis: clinical usefulness and pathogenetic implications. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 41, 394-403.
- Liechti, R., Gleizes, A., Kuznetsov, D., Bougueleret, L., Le Mercier, P., Bairoch, A., Xenarios, I., 2010. OpenFluDB, a database for human and animal influenza virus. *Database (Oxford)* 2010, baq004.
- Lindstrom, J., Seybold, M., Lennon, V., Whittingham, S., Duane, D., 1976. Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis. Prevalence, clinical correlates, and diagnostic value. *Neurology* 26, 1054-1059.
- Louie, J.K., Acosta, M., Winter, K., Jean, C., Gavali, S., Schechter, R., Vugia, D., Harriman, K., Matyas, B., Glaser, C.A., Samuel, M.C., Rosenberg, J., Talarico, J., Hatch, D., Group, C.P.H.N.W., 2009. Factors associated with death or hospitalization due to pandemic 2009 influenza A(H1N1) infection in California. *JAMA* 302, 1896-1902.

- Louie, J.S., Nies, K.M., Shoji, K.T., Fraback, R.C., Abrass, C., Border, W., Cherry, J.D., Imagawa, D., 1978. Clinical and antibody responses after influenza immunization in systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 88, 790-792.
- Lu, C.C., Wang, Y.C., Lai, J.H., Lee, T.S., Lin, H.T., Chang, D.M., 2011. A/H1N1 influenza vaccination in patients with systemic lupus erythematosus: safety and immunity, *Vaccine* 3, 444-450.
- Machado, C.M., Cardoso, M.R., da Rocha, I.F., Boas, L.S., Dulley, F.L., Pannuti, C.S., 2005. The benefit of influenza vaccination after bone marrow transplantation, *Bone Marrow Transplant* 10, 897-900.
- Malaspina, A., Moir, S., Orsega, S.M., Vasquez, J., Miller, N.J., Donoghue, E.T., Kottlil, S., Gezmu, M., Follmann, D., Vodeiko, G.M., Levandowski, R.A., Mican, J.M., Fauci, A.S., 2005. Compromised B cell responses to influenza vaccination in HIV-infected individuals. *J Infect Dis* 191, 1442-1450.
- Mandell, G.L., Douglas, R.G., Bennett, J.E., 2010. Principles and practice of infectious diseases. Churchill Livingstone, New York.
- Marx, A., Müller-Hermelink, H.K., 1999. From basic immunobiology to the upcoming WHO-classification of tumors of the thymus. The Second Conference on Biological and Clinical Aspects of Thymic Epithelial Tumors and related recent developments. *Pathol Res Pract* 195, 515-533.
- Marx, A., Müller-Hermelink, H.K., Strobel, P., 2003. The role of thymomas in the development of myasthenia gravis. *Ann N Y Acad Sci* 998, 223-236.
- Marx, A., Wilisch, A., Schultz, A., Gattenlohner, S., Nenninger, R., Müller-Hermelink, H.K., 1997. Pathogenesis of myasthenia gravis. *Virchows Arch* 430, 355-364.
- Matlin, K.S., Reggio, H., Helenius, A., Simons, K., 1981. Infectious entry pathway of influenza virus in a canine kidney cell line. *J Cell Biol* 91, 601-613.
- Meerveld-Eggink, A., de Weerdt, O., van der Velden, A.M., Los, M., van der Velden, A.W., Stouthard, J.M., Nijziel, M.R., Westerman, M., Beeker, A., van Beek, R., Rimmelzwaan, G.F., Rijkers, G.T., Biesma, D.H., 2011. Response to influenza virus vaccination during chemotherapy in patients with breast cancer, *Ann Oncol* 9, 2031-2035.
- Melms, A., Schalke, B.C., Kirchner, T., Müller-Hermelink, H.K., Albert, E., Wekerle, H., 1988. Thymus in myasthenia gravis. Isolation of T-lymphocyte lines specific for the nicotinic acetylcholine receptor from thymuses of myasthenic patients. *J Clin Invest* 81, 902-908.

- Mercado, U., Acosta, H., Avendano, L., 2004. Influenza vaccination of patients with systemic lupus erythematosus. *Rev Invest Clin* 56, 16-20.
- Meriggioli, M.N., Sanders, D.B., 2009. Autoimmune myasthenia gravis: emerging clinical and biological heterogeneity. *Lancet Neurology* 8, 475-490.
- Milani, M., Ostlie, N., Wang, W., Conti-Fine, B.M., 2003. T cells and cytokines in the pathogenesis of acquired myasthenia gravis. *Ann N Y Acad Sci* 998, 284-307.
- Miller, A.E., Morgante, L.A., Buchwald, L.Y., Coyle, P.K., Krupp, L.B., Doscher, C.A., Lublin, F.D., Knobler, R.L., Trantas, F., Kelley, L., Smith, C.R., LaRocca, N., Lopez, S., 1997. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of influenza immunization in multiple sclerosis. *Neurology* 48, 312-314.
- Moher, D., Schulz, K.F., Altman, D.G., Grp, C., 2001. The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomised trials. *Lancet* 357, 1191-1194.
- Monto, A.S., Gravenstein, S., Elliott, M., Colopy, M., Schweinle, J., 2000. Clinical signs and symptoms predicting influenza infection. *Archives of Internal Medicine* 160, 3243-3247.
- Moriabadi, N.F., Niewiesk, S., Kruse, N., Jung, S., Weissbrich, B., ter Meulen, V., Toyka, K.V., Rieckmann, P., 2001. Influenza vaccination in MS - Absence of T-cell response against white matter proteins. *Neurology* 56, 938-943.
- Moscona, A., 2005. Neuraminidase inhibitors for influenza. *N Engl J Med* 353, 1363-1373.
- Müller, H.H., Schäfer, H., 2004. A general statistical principle for changing a design any time during the course of a trial. *Stat Med* 23, 2497-2508.
- Murphy, B., Chalhub, E., Nusinoff, S., Kasel, J., Chanock, R., 1973. Temperature-sensitive mutants of influenza virus. 3. Further characterization of the ts-1(E) influenza A recombinant (H3N2) virus in man. *J Infect Dis* 128, 479-487.
- Murphy, B.R., Phelan, M.A., Nelson, D.L., Yarchoan, R., Tierney, E.L., Alling, D.W., Chanock, R.M., 1981. Hemagglutinin-specific enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to influenza A and B viruses. *J Clin Microbiol* 13, 554-560.
- Murphy, B.R., Tierney, E.L., Barbour, B.A., Yolken, R.H., Alling, D.W., Holley, H.P., Jr., Mayner, R.E., Chanock, R.M., 1980. Use of the enzyme-linked immunosorbent assay to detect serum antibody responses of volunteers who received attenuated influenza A virus vaccines. *Infect Immun* 29, 342-347.

- Newsom-Davis, J., 1988. Autoimmunity in neuromuscular disease. *Ann N Y Acad Sci* 540, 25-38.
- Nichol, K., Lind, A., Margolis, K., Murdoch, M., McFadden, R., Hauge, M., Magnan, S., Drake, M., 1995. The effectiveness of vaccination against influenza in healthy, working adults. *N Engl J Med* 333, 889-893.
- Nichol, K., Margolis, K., Lind, A., Murdoch, M., McFadden, R., Hauge, M., Magnan, S., Drake, M., 1996. Side effects associated with influenza vaccination in healthy working adults. A randomized, placebo-controlled trial. *Arch Intern Med* 156, 1546-1550.
- Nicholson, K., Wood, J., Zambon, M., 2003. Influenza. *Lancet* 362, 1733-1745.
- Nicholson, K.G., Nguyen-Van-Tam, J.S., Ahmed, A.H., Wiselka, M.J., Leese, J., Ayres, J., Campbell, J.H., Ebdon, P., Eiser, N.M., Hutchcroft, B.J., Pearson, J.C.G., Willey, R.F., Wolstenholme, R.J., Woodhead, M.A., 1998. Randomised placebo-controlled crossover trial on effect of inactivated influenza vaccine on pulmonary function in asthma. *Lancet* 351, 326-331.
- Okasha, M., 2007. *Epidemiological Research* 83, *Allg Med* 2007, 452-454.
- Oosterhuis, H.J., Limburg, P.C., Hummel-Tappel, E., The, T.H., 1983. Anti-acetylcholine receptor antibodies in myasthenia gravis. Part 2. Clinical and serological follow-up of individual patients. *J Neurol Sci* 58, 371-385.
- Opstelten, W., Rimmelzwaan, G.F., van Essen, G.A., Bijlsma, J.W., 2009. Influenza vaccination of immunocompromised patients: safe and effective. *Ned Tijdschr Geneesk* 153, A902.
- Oren, S., Mandelboim, M., Braun-Moscovici, Y., Paran, D., Ablin, J., Litinsky, I., Comaneshter, D., Levartovsky, D., Mendelson, E., Azar, R., Wigler, I., Balbir-Gurman, A., Caspi, D., Elkayam, O., 2008. Vaccination against influenza in patients with rheumatoid arthritis: the effect of rituximab on the humoral response, *Ann Rheum Dis* 7, 937-941.
- Osserman, K., Genkins, G., 1971. Studies in myasthenia gravis: review of a twenty-year experience in over 1200 patients. *Mt Sinai J Med* 38, 497-537.
- Palace, J., Newsom-Davis, J., Lecky, B., 1998. A randomized double-blind trial of prednisolone alone or with azathioprine in myasthenia gravis. Myasthenia Gravis Study Group. *Neurology* 50, 1778-1783.

- Patrick, J., Lindstrom, J., 1973. Autoimmune response to acetylcholine receptor. *Science* 180, 871-872.
- Patwa, H.S., Chaudhry, V., Katzberg, H., Rae-Grant, A.D., So, Y.T., 2012. Evidence-based guideline: intravenous immunoglobulin in the treatment of neuromuscular disorders: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology, *Neurology* 13, 1009-1015.
- Phillips, L., 2004. The epidemiology of myasthenia gravis. *Semin Neurol* 24, 17-20.
- Phillips, L., Torner, J., 1996. Epidemiologic evidence for a changing natural history of myasthenia gravis. *Neurology* 47, 1233-1238.
- Pinching, A., Peters, D., 1976. Remission of myasthenia gravis following plasma-exchange. *Lancet* 2, 1373-1376.
- Potter, C., Jennings, R., Nicholson, K., Tyrrell, D., Dickinson, K., 1977. Immunity to attenuated influenza virus WRL 105 infection induced by heterologous, inactivated influenza A virus vaccines. *J Hyg* 79, 321-332.
- Potter, C.W., 2001. A history of influenza, *J Appl Microbiol* Vol. 4, England, pp. 572-579.
- Pumplin, D.W., Drachman, D.B., 1983. Myasthenic patients IgG causes redistribution of Acetylcholine-Receptors - Freeze-Fracture-Studies. *Journal of Neuroscience* 3, 576-584.
- Remarque, E.J., de Bruijn, I.A., Boersma, W.J., Masurel, N., Ligthart, G.J., 1998. Altered antibody response to influenza H1N1 vaccine in healthy elderly people as determined by HI, ELISA, and neutralization assay. *J Med Virol* 55, 82-87.
- Remarque, E.J., van Beek, W.C., Ligthart, G.J., Borst, R.J., Nagelkerken, L., Palache, A.M., Sprenger, M.J., Masurel, N., 1993. Improvement of the immunoglobulin subclass response to influenza vaccine in elderly nursing-home residents by the use of high-dose vaccines. *Vaccine* 11, 649-654.
- Renegar, K.B., Small, P.A., Boykins, L.G., Wright, P.F., 2004. Role of IgA versus IgG in the control of influenza viral infection in the murine respiratory tract. *J Immunol* 173, 1978-1986.
- Ristow, S.C., Douglas, R.G., Jr., Condemi, J.J., 1978. Influenza vaccination of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 88, 786-789.

- RKI, Robert-Koch-Institut, 2009a. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2008.
- RKI, Robert-Koch-Institut, 2009b. Influenza (Saisonale Influenza, Neue (pandemische) Influenza A/H1N1, Aviäre Influenza), RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten.
- RKI, Robert-Koch-Institut, 2012. Impfempfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) am Robert Koch-Institut / Stand: Juli 2012, *Epid Bull* 2012; 30: 283–310.
- Robertson, N.P., Deans, J., Compston, D.A., 1998. Myasthenia gravis: a population based epidemiological study in Cambridgeshire, England. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 65, 492-496.
- Ronager, J., Ravnborg, M., Hermansen, I., Vorstrup, S., 2001. Immunoglobulin treatment versus plasma exchange in patients with chronic moderate to severe myasthenia gravis, *Artif Organs* 12, 967-973.
- Ross, S., Grant, A., Counsell, C., Gillespie, W., Russell, I., Prescott, R., 1999. Barriers to participation in randomised controlled trials: a systematic review. *J Clin Epidemiol* 52, 1143-1156.
- Rota, P.A., Wallis, T.R., Harmon, M.W., Rota, J.S., Kendal, A.P., Nerome, K., 1990. Co-Circulation of 2 distinct evolutionary lineages of Influenza Type-B Virus since 1983. *Virology* 175, 59-68.
- Roxanis, I., Micklem, K., McConville, J., Newsom-Davis, J., Willcox, N., 2002. Thymic myoid cells and germinal center formation in myasthenia gravis; possible roles in pathogenesis, *J Neuroimmunol* 1-2, 185-197.
- Rozsa, C., Mikor, A., Kasa, K., Illes, Z., Komoly, S., 2009. Long-term effects of combined immunosuppressive treatment on myasthenic crisis. *European Journal of Neurology* 16, 796-800.
- Sackett, D.L., Rosenberg, W.M., Gray, J.A., Haynes, R.B., Richardson, W.S., 1996. Evidence based medicine: what it is and what it isn't. *BMJ* 312, 71-72.
- Saka, E., Topcuoglu, M., Akkaya, B., Galati, A., Onal, M., Vincent, A., 2005. Thymus changes in anti-MuSK-positive and -negative myasthenia gravis. *Neurology* 65, 782-783; author reply 782-783.
- Salemi, S., D'Amelio, R., 2010a. Are anti-infectious vaccinations safe and effective in patients with autoimmunity? *Int Rev Immunol* 29, 270-314.

- Salemi S, D'Amelio R., 2010b. Could autoimmunity be induced by vaccination? *Int Rev Immunol* 29:247-269.
- Salemi, S., Picchianti-Diamanti, A., Germano, V., Donatelli, I., Di Martino, A., Facchini, M., Nisini, R., Biselli, R., Ferlito, C., Podesta, E., Cappella, A., Milanetti, F., Rossi, F., Amodeo, R., Tabacco, F., Di Rosa, R., Lagana, B., R, D.A., 2010. Influenza vaccine administration in rheumatoid arthritis patients under treatment with TNFalpha blockers: safety and immunogenicity, *Clin Immunol* 2, 113-120.
- Sanchez-Fructuoso, A.I., Prats, D., Naranjo, P., Fernández-Pérez, C., González, M.J., Mariano, A., González, J., Figueredo, M.A., Martin, J.M., Paniagua, V., Fereres, J., Gómez de la Concha, E., Barrientos, A., 2000. Influenza virus immunization effectivity in kidney transplant patients subjected to two different triple-drug therapy immunosuppression protocols: mycophenolate versus azathioprine. *Transplantation* 69, 436-439.
- Sanders, D.B., Evoli, A., 2010. Immunosuppressive therapies in myasthenia gravis. *Autoimmunity* 43, 428-435.
- Sanofi Pasteur MSD GmbH, Gebrauchsinformation und Fachinformation Mutagrip®, Sanofi Pasteur MSD GmbH.
- Scadding, G., Vincent, A., Newsom-Davis, J., Henry, K., 1981. Acetylcholine receptor antibody synthesis by thymic lymphocytes: correlation with thymic histology. *Neurology* 31, 935-943.
- Schaade, L., Widders, U., Stange, G., Höhl, N., 2009. Vaccination recommendations of the Standing Committee on Vaccination at the Robert Koch Institute : Legal basis and significance. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*.
- Scherbaum, W.A., Schumm, F., Maisch, B., Müller, C., Fateh-Moghadam, A., Fluchter, S.H., Seif, F.J., Bottazzo, G.F., Berg, P.A., 1983. Myasthenia gravis: overlap with 'polyendocrine' autoimmunity. *Klin Wochenschr* 61, 509-515.
- Schluep, M., Willcox, N., Vincent, A., Dhoot, G.K., Newsom-Davis, J., 1987. Acetylcholine-Receptors in human thymic myoid cells in situ - an immunohistological study. *Annals of Neurology* 22, 212-222.
- Schneider-Gold, C., Gajdos, P., Toyka, K.V., Hohlfeld, R.R., 2005. Corticosteroids for myasthenia gravis. *Cochrane Database Syst Rev*, CD002828.

- Schonberger, L., Bregman, D., Sullivan-Bolyai, J., Keenlyside, R., Ziegler, D., Retalliau, H., Eddins, D., Bryan, J., 1979. Guillain-Barre syndrome following vaccination in the National Influenza Immunization Program, United States, 1976--1977. *Am J Epidemiol* 110, 105-123.
- Schumacher, M., Schulgen, G., Schulgen/Kristiansen, G., 2009. *Methodik klinischer Studien, Methodische Grundlagen der Planung, Durchführung und Auswertung*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Schumm, F., 2000. Leitfaden für Myasthenia gravis-Patienten, Deutsche Myasthenie Gesellschaft e.V.
- Schumm, F., Fatehmoghadam, A., Dichgans, J., 1984. Correlation between serum anti-Acetylcholine-Receptor antibody-levels and clinical state under immunosuppressive therapy in Myasthenia-Gravis. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 234, 224-230.
- Seidman, J.C., Richard, S.A., Viboud, C., Miller, M.A., 2012. Quantitative review of antibody response to inactivated seasonal influenza vaccines. *Influenza Other Respi Viruses* 6, 52-62.
- Seybold, M.E., Lindstrom, J.M., 1981. Patterns of acetylcholine receptor antibody fluctuation in myasthenia gravis. *Ann N Y Acad Sci* 377, 292-306.
- Shibuya, N., Sato, T., Osame, M., Takegami, T., Doi, S., Kawanami, S., 1994. Immunoabsorption therapy for myasthenia gravis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 57, 578-581.
- Shinya, K., Ebina, M., Yamada, S., Ono, M., Kasai, N., Kawaoka, Y., 2006. Avian flu: influenza virus receptors in the human airway, *Nature* 7083, 435-436.
- Sibley, W.A., Bamford, C.R., Clark, K., 1985. Clinical viral infections and multiple sclerosis. *Lancet* 1, 1313-1315.
- Simonsen, L., Reichert, T.A., Viboud, C., Blackwelder, W.C., Taylor, R.J., Miller, M.A., 2005. Impact of influenza vaccination on seasonal mortality in the US elderly population, *Arch Intern Med* 3, 265-272.
- Simpson, J., 1960. Myasthenia gravis, a new hypothesis. *Scott. Med. J.* 5, 419-436.
- Skeie, G.O., Apostolski, S., Evoli, A., Gilhus, N.E., Illa, I., Harms, L., Hilton-Jones, D., Melms, A., Verschuuren, J., Horge, H.W., 2010. Guidelines for treatment of autoimmune neuromuscular transmission disorders, *Eur J Neurol* 7, 893-902.

- Smith, D.J., Forrest, S., Ackley, D.H., Perelson, A.S., 1999. Variable efficacy of repeated annual influenza vaccination. *Proc Natl Acad Sci*, 14001-14006.
- Soesman, N.M., Rimmelzwaan, G.F., Nieuwkoop, N.J., Beyer, W.E., Tilanus, H.W., Kemmeren, M.H., Metselaar, H.J., de Man, R.A., Osterhaus, A.D., 2000. Efficacy of influenza vaccination in adult liver transplant recipients, *J Med Virol* 1, 85-93.
- Sommer, N., Harcourt, G.C., Willcox, N., Beeson, D., Newsom-Davis, J., 1991. Acetylcholine receptor-reactive T lymphocytes from healthy subjects and myasthenia gravis patients. *Neurology* 41, 1270-1276.
- Sommer, N., Sigg, B., Melms, A., Weller, M., Schepelmann, K., Herzau, V., Dichgans, J., 1997. Ocular myasthenia gravis: response to long-term immunosuppressive treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 62, 156-162.
- Sommer, N., Tackenberg, B., Hohlfeld, R., 2008. The immunopathogenesis of myasthenia gravis. *Handb Clin Neurol* 91, 169-212.
- Sommer, N., Willcox, N., Harcourt, G.C., Newsom-Davis, J., 1990. Myasthenic thymus and thymoma are selectively enriched in acetylcholine receptor-reactive T cells. *Ann Neurol* 28, 312-319.
- Somnier, F., Keiding, N., Paulson, O., 1991. Epidemiology of myasthenia gravis in Denmark. A longitudinal and comprehensive population survey. *Arch Neurol* 48, 733-739.
- Song, J.Y., Cheong, H.J., Hwang, I.S., Choi, W.S., Jo, Y.M., Park, D.W., Cho, G.J., Hwang, T.G., Kim, W.J., 2010. Long-term immunogenicity of influenza vaccine among the elderly: Risk factors for poor immune response and persistence. *Vaccine* 28, 3929-3935.
- Stalberg, E., Trontelj, J.V., Schwartz, M.S., 1976. Single muscle fiber recording of jitter phenomenon in patients with Myasthenia gravis and members of their families. *Annals of the New York Academy of Sciences* 274, 189-202.
- Sullivan, K.M., Monto, A.S., Longini, I.M., 1993. Estimates of the United-States health impact of Influenza. *American Journal of Public Health* 83, 1712-1716.
- Surh, C.D., Sprent, J., 1994. T-cell apoptosis detected in situ during positive and negative selection in the thymus. *Nature* 372, 100-103.
- Tackenberg, B., 2010. Die zelluläre Immunantwort und ihre therapiebedingte Modulation bei neuromuskulären Autoimmunerkrankungen. *Habilitationsschrift*.

- Tackenberg, B., Hemmer, B., Oertel, W.H., Sommer, N., 2001. Immunosuppressive treatment of ocular myasthenia gravis. *Biodrugs* 15.
- Tackenberg, B., Schlegel, K., Happel, M., Eienbroeker, C., Gellert, K., Oertel, W.H., Meager, A., Willcox, N., Sommer, N., 2009. Expanded TCR V beta subsets of CD8(+) T-cells in late-onset myasthenia gravis: Novel parallels with thymoma patients. *Journal of Neuroimmunology* 216.
- Tanzi, E., Amendola, A., Pariani, E., Zappa, A., Colzani, D., Logias, F., Perego, A., Zanetti, A.R., 2007. Lack of effect of a booster dose of influenza vaccine in hemodialysis patients. *J Med Virol* 79, 1176-1179.
- Thangarajh, M., Masterman, T., Helgeland, L., Rot, U., Jonsson, M.V., Eide, G.E., Pirskanen, R., Hillert, J., Jonsson, R., 2006. The thymus is a source of B-cell-survival factors-APRIL and BAFF-in myasthenia gravis, *J Neuroimmunol* 1-2, 161-166.
- Thomas, C.E., Mayer, S.A., Gungor, Y., Swarup, R., Webster, E.A., Chang, I., Brannagan, T.H., Fink, M.E., Rowland, L.P., 1997. Myasthenic crisis: Clinical features, mortality, complications, and risk factors for prolonged intubation. *Neurology* 48, 1253-1260.
- Thompson, C., Powrie, F., 2004. Regulatory T cells. *Current Opinion in Pharmacology* 4, 408-414.
- Thompson, W.W., Shay, D.K., Weintraub, E., Brammer, L., Cox, N., Anderson, L.J., Fukuda, K., 2003. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *Jama-Journal of the American Medical Association* 289, 179-186.
- Tindall, R.S., 1981. Humoral immunity in myasthenia gravis: biochemical characterization of acquired antireceptor antibodies and clinical correlations. *Ann Neurol* 10, 437-447.
- Tokars, J.I., Lewis, P., DeStefano, F., Wise, M., Viray, M., Morgan, O., Gargiullo, P., Vellozzi, C., 2012. The risk of Guillain-Barre syndrome associated with influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccine and 2009-2010 seasonal influenza vaccines: results from self-controlled analyses. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 21, 546-552.
- Tola, M., Caniatti, L., Casetta, I., Granieri, E., Conighi, C., Quatralè, R., Monetti, V., Paolino, E., Govoni, V., Pascarella, R., 1994. Immunogenetic heterogeneity and associated autoimmune disorders in myasthenia gravis: a population-based

- survey in the province of Ferrara, northern Italy. *Acta Neurol Scand* 90, 318-323.
- Toplak N, Kveder T, Trampus-Bakija A, Subelj V, Cucnik S, Avcin T., 2008. Autoimmune response following annual influenza vaccination in 92 apparently healthy adults. *Autoimmun Rev*. 8:134-138.
- Toyka, K., Becker, T., Fateh-Moghadam, A., Besinger, U., Brehm, G., Neumeier, D., Heininger, K., Birnberger, K., 1979. The significance of determining antibodies to acetylcholine receptor in myasthenia gravis. *Klin Wochenschr* 57, 937-942.
- Toyka, K., Brachman, D., Pestronk, A., Kao, I., 1975. Myasthenia gravis: passive transfer from man to mouse. *Science* 190, 397-399.
- Tsai, T.F., 2011. MF59 adjuvanted seasonal and pandemic influenza vaccines, *Yakugaku Zasshi* 12, 1733-1741.
- Tsuji, T., Yamasaki, H., Tsuda, H., 2009. Refractory idiopathic thrombocytopenic purpura following influenza vaccination. *Rinsho Ketsueki* 50, 577-579.
- Tzartos, S., Seybold, M., Lindstrom, J., 1982. Specificities of antibodies to acetylcholine receptors in sera from myasthenia gravis patients measured by monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci* 79, 188-192.
- Tzartos, S.J., Lindstrom, J.M., 1980. Monoclonal antibodies used to probe acetylcholine receptor structure: localization of the main immunogenic region and detection of similarities between subunits. *Proc Natl Acad Sci* 77, 755-759.
- Valeant Pharmaceuticals International, 2000. Mestinon[®] (pyridostigmine bromide tablets, USP) Fachinformation.
- van Assen, S., Holvast, A., Benne, C.A., Posthumus, M.D., van Leeuwen, M.A., Voskuyl, A.E., Blom, M., Risselada, A.P., de Haan, A., Westra, J., Kallenberg, C.G., Bijl, M., 2010. Humoral responses after influenza vaccination are severely reduced in patients with rheumatoid arthritis treated with rituximab. *Arthritis Rheum* 62, 75-81.
- van Elden, L.J.R., Nijhuis, M., Schipper, P., Schuurman, R., van Loon, A.M., 2001. Simultaneous detection of influenza viruses A and B using real-time quantitative PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 39, 196-200.
- Van Voris, L.P., Betts, R.F., Menegus, M.A., Murphy, B.R., Roth, F.K., Douglas, R.G., Jr., 1985. Serological diagnosis of influenza A/USSR/77 H1N1 infection: value of ELISA compared to other antibody techniques. *J Med Virol* 16, 315-320.

- Vedhara, K., Cox, N.K., Wilcock, G.K., Perks, P., Hunt, M., Anderson, S., Lightman, S.L., Shanks, N.M., 1999. Chronic stress in elderly carers of dementia patients and antibody response to influenza vaccination. *Lancet* 353, 627-631.
- Vincent, A., 2002. Unravelling the pathogenesis of myasthenia gravis. *Nature Reviews Immunology* 2, 797-804.
- Vincent, A., Bowen, J., Newsom-Davis, J., McConville, J., 2003a. Seronegative generalised myasthenia gravis: clinical features, antibodies, and their targets. *Lancet Neurol* 2, 99-106.
- Vincent, A., Clover, L., Buckley, C., Grimley Evans, J., Rothwell, P., 2003b. Evidence of underdiagnosis of myasthenia gravis in older people. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74, 1105-1108.
- Vincent, A., Newsom-Davis, J., Newton, P., Beck, N., 1983. Acetylcholine receptor antibody and clinical response to thymectomy in myasthenia gravis. *Neurology* 33, 1276-1282.
- Vista ES, Crowe SR, Thompson LF, Air GM, Robertson JM, Guthridge JM, et al., 2012. Influenza vaccination can induce new-onset anticardiolipins but not beta2-glycoprotein-I antibodies among patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 21, 168-174.
- Wagner, D.K., Clements, M.L., Reimer, C.B., Snyder, M., Nelson, D.L., Murphy, B.R., 1987. Analysis of immunoglobulin G antibody responses after administration of live and inactivated influenza A vaccine indicates that nasal wash immunoglobulin G is a transudate from serum. *J Clin Microbiol* 25, 559-562.
- Walker, M., 1934. Treatment of myasthenia gravis with physostigmine. *Lancet* 1, 1200-1201.
- Webster, R.G., Bean, W.J., Gorman, O.T., Chambers, T.M., Kawaoka, Y., 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 56, 152-179.
- Wesselijs-de Casparis, A., Masurel, N., Kerrebijn, K., 1972. Field trial with human and equine influenza vaccines in children: protection and antibody titres. *Bull World Health Organ* 46, 151-157.
- WHO, World Health Organization., 2007. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2007-2008 influenza season. *Wkly Epidemiol Rec* 82, 69-74.

- WHO, World Health Organization, 2008. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2008-2009 influenza season. *Wkly Epidemiol Rec* 83, 81-87.
- Wiesik-Szewczyk, E., Romanowska, M., Mielnik, P., Chwalinska-Sadowska, H., Brydak, L.B., Olesinska, M., Zabek, J., 2010. Anti-influenza vaccination in systemic lupus erythematosus patients: an analysis of specific humoral response and vaccination safety. *Clin Rheumatol* 29, 605-613.
- Willcox, N., Leite, M.I., Kadota, Y., Jones, M., Meager, A., Subrahmanyam, P., Dasgupta, B., Morgan, B.P., Vincent, A., 2008. Autoimmunizing mechanisms in thymoma and thymus, *Ann N Y Acad Sci*, 163-173.
- Windeler, J., Antes, G., Efficacy und Effectiveness, http://www.ebm-netzwerk.de/grundlagen/images/efficacy_and_effectiveness.pdf.
- Witte, A.S., Cornblath, D.R., Parry, G.J., Lisak, R.P., Schatz, N.J., 1984. Azathioprine in the treatment of myasthenia gravis. *Ann Neurol* 15, 602-605.
- WMA, World Medical Association, 1997. World Medical Association declaration of Helsinki. Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. *JAMA* 277, 925-926.
- Wolfe, G.I., Herbelin, L., Nations, S.P., Foster, B., Bryan, W.W., Barohn, R.J., 1999. Myasthenia gravis activities of daily living profile. *Neurology* 52, 1487-1489.
- Wood, J.M., Gaines-Das, R.E., Taylor, J., Chakraverty, P., 1994. Comparison of influenza serological techniques by international collaborative study. *Vaccine* 12, 167-174.
- Wraith, D., Goldman, M., Lambert, P., 2003. Vaccination and autoimmune disease: what is the evidence? *Lancet* 362, 1659-1666.
- Zhang, X., Yang, M., Xu, J., Zhang, M., Lang, B., Wang, W., Vincent, A., 2007. Clinical and serological study of myasthenia gravis in HuBei Province, China. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 78.
- Zhou, L., McConville, J., Chaudhry, V., Adams, R.N., Skolasky, R.L., Vincent, A., Drachman, D.B., 2004. Clinical comparison of muscle-specific tyrosine kinase (MuSK) antibody-positive and -negative myasthenic patients. *Muscle & Nerve* 30.

- Zinman, L., Thoma, J., Kwong, J.C., Kopp, A., Stukel, T.A., Juurlink, D.N., 2009. Safety of Influenza vaccination in patients with Myasthenia gravis: a population-based study. *Muscle & Nerve* 40, 947-951.

Abkürzungsverzeichnis

ACh	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterase
AChR	Acetylcholinrezeptor
AChR-Ak	Acetylcholinrezeptorantikörper
ACIP	Advisory Committee on Immunization Practices
AE	Adverse Event
Ak	Antikörper
AMG	Arzneimittelgesetz
ANCA	Antineutrophile cytoplasmatische Antikörper
ANOVA	Univariate Varianzanalyse
Aza	Azathioprin
CD	Cluster of differentiation
CH	Acetylcholinesteraseinhibitoren
CONSORT	Consolidated Standard of Reporting Trials
CPMP	Committee for Proprietary Medicinal Products
CsA	Cyclosporin A
DMG	Deutsche Myasthenie Gesellschaft
EAMG	Experimentelle autoimmune Myasthenia gravis
EBV	Epstein-Barr-Virus
eCRF	Electronic Case Report Form
EDC	Electronic Data Capture
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EMA	European Agency for the Evaluation of Medicinal Products
EOMG	Early-onset Myasthenia gravis
FS	Full analysis set
GBS	Guillain-Barré-Syndrom
GCP	Good Clinical Practice
GKS	Glukokortikosteroide
HA	Hämagglutinin

HAI	Hämagglutinin-Inhibitions-Test
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
Ig	Immunglobulin
IGc	Chronische intravenöse Immunglobulintherapie
ILI	Grippe-artige Erkrankung (Influenza-like-illness)
IM	Immunsuppressive Therapie außer Prednison
ITT	Intent-to-treat
IVIg	Intravenöse Immunglobulintherapie
KI	Konfidenzintervall
KKS	Koordinierungszentrum für klinische Studien Marburg
L	Liter
LOMG	Late-onset Myasthenia gravis
MAMG	MuSK-assoziierte Myasthenia gravis
mBS	Modifizierter Besinger-Score
MFI	Mean Fold Increase
MG	autoimmune Myasthenia gravis
MGFA	Myasthenia gravis Foundation of America
MHC	Major Histocompatibility Complex
MMF	Mycophenolatmofetil
MTX	Methotrexat
MuSK	Muskel-spezifische Rezeptor-Kinase
MW	Mittelwert
n	Anzahl
NA	Neuraminidase
nAChR	nikotinerger Acetylcholinrezeptor
nmol	Nanomol
NT	No Therapy
OMG	Okuläre Myasthenia gravis
PCR	Polymerasekettenreaktion
PEI	Paul-Ehrlich-Institut
PP	Per-protocol

PR	Prednison / Glukokortikosteroide
QMG	Quantitativer Myasthenia gravis-Score
RCT	Randomisierte kontrollierte Studie
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	Ribonukleinsäure
RNP	Ribonucleoprotein
RR	Relatives Risiko
SAE	Serious Adverse Event
SD	Standardabweichung
sec	Sekunden
SLE	Systemischer Lupus erythematodes
SNMG	Seronegative Myasthenia gravis
SPT	Status post Thymectomy
SRH	Single-Radial Hemolysis-Test
STIKO	Ständige Impfkommision des Robert-Koch-Instituts
SUSAR	Suspected Unexpected Serious Adverse Reaction
Tac	Tacrolimus
TMC	Thymische Mypoidzellen
TCR	T-Zell-Rezeptor
TOMG	Thymom-assoziierte Myasthenia gravis
T _{Reg}	Regulatorische T-Zelle
V	Studienvisit
VE	Vaccine effectiveness
WHO	Weltgesundheitsorganisation

Anhang

A) Telefaxe zur Randomisierung

ProPATlent

||_|_|_|
Pat.-Nr.

||_|_|_|.200|_|
Datum der Visite

Randomisierung

Anmeldung und Mitteilung an den Prüfarzt



Koordinierungszentrum für Klinische Studien (KKS)
Philipps-Universität Marburg
Robert-Koch-Str. 5, 35037 Marburg
Mo - Do: 08:00-16:00, Fr: 08:00-14:00
Fax: 06421/28-66517

Absender: Philipps-Universität Marburg, AG Klinische Neuroimmunologie,
Rudolf-Bultmann-Str. 8, 35033 Marburg

Prüfarzt: _____

Fax-Nr.: _____

Vom Prüfzentrum auszufüllen:

1. Alle Einschlusskriterien mit **JA** und alle Ausschlusskriterien mit **NEIN** beantwortet

☐ **ja** ☐ **nein**

2. Immunsuppressive Therapie

☐ **ja** ☐ **nein**

||_|_|_|.200|_|
(Datum)

Unterschrift (Prüfarzt)

Vom KKS auszufüllen:

- Patient wurde randomisiert und die Therapiezuweisung wurde der zuständigen Impfschwester telefonisch übermittelt.
- Die Impfschwester hat per Fax bestätigt, dass sie das Ergebnis der Randomisierung korrekt in das für den Notfallumschlag bestimmte Formular eingetragen hat.
- Es wurde von der Impfschwester bestätigt, dass der Notfallumschlag verschlossen in der Patientenakte aufbewahrt wird.

||_|_|_|.200|_|
(Datum)

Unterschrift (KKS-Mitarbeiter)

ProPATient

 |_|_|_|_|_|
 Pat.-Nr.

 |_|_|_|_|_|.200|_|_|
 Datum der Visite

Ergebnis der Randomisierung

! THERAPIEZUTEILUNG: NUR FÜR DIE ZUSTÄNDIGE IMPFSCHWESTER !


 Koordinierungszentrum für Klinische Studien (KKS)
 Philipps-Universität Marburg
 Robert-Koch-Str. 5, 35037 Marburg
 Mo - Do: 08:00-16:00, Fr: 08:00-14:00
 Fax: 06421/28-66517

Senden an:	Philipps-Universität Marburg, AG Klinische Neuroimmunologie, Rudolf-Bultmann-Str. 8, 35033 Marburg
Impfchwester:	Simone Brozat - persönlich -
Fax-Nr.:	06421-28-65164
Telefon-Nr.:	06421-28-65226

Vom KKS auszufüllen:

1. Datum der Therapiezuweisung: |_|_|_|_|_|.200|_|_|

2. THERAPIE

☐ A (Plazebo)

☐ B (Verum)

|_|_|_|_|.200|_|_| (Datum) _____ (Unterschrift (KKS-Mitarbeiter))

Von der Impfchwester auszufüllen:

1. Datum der Impfung/Injektion: |_|_|_|_|_|.200|_|_|

2. Ch.-B.: _____ (bitte unbedingt eintragen oder durchstreichen)

- Die Therapiezuweisung wurde mir telefonisch vom KKS mitgeteilt.
- Das Ergebnis (Plazebo oder Verum) wurde von mir auf diesem Fax-Formular angekreuzt.
- Als Bestätigung wird dieses Fax-Formular vor der Injektion an das KKS gesendet (06421-2866517).
- Der Notfallumschlag mit diesem Fax-Formular und dem Anhang 16 zum Prüfplan wird von mir verschlossen und in der Krankenakte hinterlegt.

|_|_|_|_|.200|_|_| (Datum) _____ (Unterschrift (Impfchwester))

B) Notfallumschlag

Anhang 16 ProPATient 1.8

8.16 Individuelles Randomisierungsergebnis mit Ch.-B. für die Krankenakte

Patientenaufkleber

O. g. Patient/Patientin nimmt an folgender klinischen Phase IV Studie teil:

Prospektive, randomisierte, Plazebo-kontrollierte, doppelblinde Studie über Veränderungen des Acetylcholin Rezeptor Antikörper Titers bei der autoimmunen Myasthenia gravis nach einer Influenza Schutzimpfung (ProPATient)

Er/Sie ist mit

- ☐ Mutagrip 0.5 mL (*Impfstoff gegen Influenza*)
- ☐ Plazebo (NaCl 0,9%) 0,5 mL

behandelt worden (zutreffendes bitte gemäß Randomisierungsergebnis eintragen).

Impf-/Injektionsdatum: ____/____/____

Ch.-B.: _____ (bitte unbedingt eintragen oder durchstreichen).

Datum und Unterschrift Impfschwester

8.17 Beschriftung des Notfallumschlages, in den das Formblatt Abschnitt 8.16 eingelegt wird

Patientenetikett	Prospektive, randomisierte, <u>P</u> lazebo-kontrollierte, doppelblinde Studie über Veränderungen des <u>A</u> cetylcholin Rezeptor Antikörper <u>T</u> iters bei der autoimmunen Myasthenia gravis nach einer <u>I</u> nfluenza Schutzimpfung (ProPATient)
<p>ENTBLINDUNGSUMSCHLAG MIT ANGABEN ZUM STUDIENMEDIKAMENT BITTE NUR IM NOTFALL ÖFFNEN !!</p> <p><i>NACH</i>BEENDIGUNG DER STUDIE BITTE DIESEN UMSCHLAG ÖFFNEN UND DAS RANDOMISIERUNGSERGEBNIS UND DIE Ch.-B. IN DIE KRANKENAKTE ÜBERTRAGEN !</p>	

C) Anamnesebogen

ProPATient-Studie

Screening:

Datum:

Einverständniserklärung Datum:

Ein- und Ausschlusskriterien (Kopie)

Vitalzeichen: RR Puls Temp. AF Gewicht

EKG

Blutentnahme: AChR-AK ☐ anti-Influenza Ig ☐

Myasthenia gravis: Datum der Erstdiagnose:

Unterform:

Myasthene Krise:

andere Autoimmunerkrankungen:

andere Begleiterkrankungen:

Operationen:

pathologische Befunde neurologisch:

pathologische Befunde internistisch:

Basinger score:

immunsuppressive Medikation:

sonstige Medikation:

Randomisierung Datum:

Impfung Datum:

Impfreaktion:

ProPATlent-Studie

Telefonvisite:Visite 2 ☐Visite 4 ☐

Datum:

Impfreaktion:

Aktuelle Medikation:

AE/SAE:

PROPAGATOR-Studie

Visite 3 ☐**Visite 5** ☐

Datum:

Anamnese:

Vitalzeichen (nur Visite5):

RR

Puls

Temp.

AF

Gewicht

Basinger score:

Medikation:

Blutentnahme:

AChR-AK ☐anti-Influenza Ig (nur Visite3) ☐

AE/SAE

D) Experteneinschätzung des klinisch relevanten Unterschiedes eines AChR-Ak-Titeranstieges

Name	Vorname	Qualifikation im Feld	Einschätzung des klinisch relevanten Unterschiedes
Toyka	Klaus-Viktor	Mitentdecker der Autoimmun- und Antikörpergenese der MG, em. Direktor der Neurolog. Uni-Klinik Würzburg	20%
Melms	Arthur	Ehem. Direktor Neurolog. Uni-Klinik Tübingen; Neuroimmunologe mit Schwerpunkt Pathophysiologie der MG, Mitglied des Ärztlichen Bundesbeirates (ÄB) der Deutschen Myasthenie Gesellschaft (DMG)	20%
Janzen	RWC	Ehem. Chefarzt des Nord-West-Krankenhauses Frankfurt/M., Vorsitzender des ÄB der DMG	10-15%
Schalke	Berthold	Ltd. OA der Neurolog. Uni-Klinik Regensburg, Neuroimmunologe, Schwerpunkt Pathophysiologie und Therapie des MG assoziierten Thymoms, Mitglied des ÄB der DMG	25 – 50 %
Sieb	Jörn-Peter	Chefarzt der Neurolog. Klinik Stralsund, Genetiker, Schwerpunkt kongenitale Myasthenien	20 %
Schumm	Friedrich	Ehem. Chefarzt der Neurolog. Klinik Christophsbad, ehem. Vorsitzender des ÄB und Gründer der DMG, Schwerpunkt: Therapie der MG	20 %
Henze	Thomas	Chefarzt der Neurolog. Klinik Nittenau, Mitglied des ÄB der DMG	20-25%
Köhler	Wolfgang	Chefarzt Neurolog. Klinik Hubertusburg, Mitglied des ÄB der DMG	25%

E) Electronic Case Report Form (eCRF)

Study: ProPATient (Version: 1) Form: Demographische Daten Page 1 Printed 2008/08/31 11:11:23

**Prospektive, randomisierte, doppelblinde, Plazebo-kontrollierte Studie über
Veränderungen des Acetylcholin Rezeptor Antikörper Titer bei der
autoimmunen Myasthenia gravis nach einer Influenza Schutzimpfung
(ProPATient)**

Datum Visite 1

Patientennummer

Patienteninitialen

(erster Buchstabe des Vornamens und erster Buchstabe des Nachnamens)

Geburtsdatum

Geschlecht

 ▼

Liegt die unterzeichnete Einverständniserklärung vor?

 ▼

Datum der Einverständniserklärung

ProPATient

 Patientennummer

 Patienteninitialen

Einschlusskriterien

- | | |
|--|----------------------------|
| 1. Schriftliche Einverständniserklärung („informed consent“) | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |
| 2. Alter mindestens 18 und höchstens 80 Jahre | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |
| 3. Diagnose einer Myasthenia gravis nach Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN; www.dgn.org) | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |
| 4. Positive AChR-AK im Serum | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |
| 5. Klinisch stabile Myasthenia gravis seit mindestens 4 Monaten vor Studieneinschluss | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |

Ausschlusskriterien

- | | |
|--|----------------------------|
| 1. Jede Impfung innerhalb der letzten 9 Monate vor Studieneinschluss | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |
| 2. Schwere Herzerkrankung in der Anamnese (z. B. instabile Angina pectoris, Herzinfarkt innerhalb eines Jahres vor Studieneinschluss, Kardiomyopathie, Herzinsuffizienz schwerer als NYHA-Stadium II, implantierter Defibrillator, Z. n. Herzstillstand) | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |
| 3. Höhergradige Herzrhythmusstörungen im Screening-EKG | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |
| 4. Tumorerkrankung in der Anamnese | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |
| 5. Klinische Zeichen für eine akute erregungsbedingte Entzündung bei Screening/Visit 1 (Fieber > 37,5°C; auskultatorische, palpatorische oder perkussorische Zeichen für systemischen Infekt oder Abszess) | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |
| 6. Bekannte Allergie gegen Hühnereiweiss | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |
| 7. Schwere Impfreaktion bei einer vorangegangenen Impfung (z. B. anaphylaktoide oder allergische Reaktion, Entwicklung einer Autoimmunreaktion nach Impfung) | <input type="radio"/> ja |
| | <input type="radio"/> nein |

ProPATlentPatientennummer Patienteninitialen Datum Visite 2 Datum Visite 3 Datum Visite 4 Art der Visite **Anamnese**Liegt eine Myasthenia gravis vor? Unterform der Myasthenia gravis Datum der Erstdiagnose Myasthene Krise in der Vorgeschichte? **Begleiterkrankungen**Andere Autoimmunerkrankungen ☐ Rheumatoide Arthritis☐ Asthma bronchiale☐ SLE☐ M. Wegener☐ Polymyositis☐ Dermatomyositis☐ Perniziöse Anämie☐ Spondylosis ankylans☐ Sklerodermis☐ Idiopathische thrombozytopenische Purpura☐ weitere Autoimmunerkrankungen bitte spezifizieren

Alle Begleiterkrankungen ausser anderen Autoimmunerkrankungen:

Operationen

Körperliche Untersuchung**Bitte NUR pathologische Befunde eintragen !**

Neurologisch (alles ausser myasthene Symptome)

Internistisch

ProPATient

 Patientennummer

 Patienteninitialen

**Bitte jeweils das Präparat und die Tagesdosis in mg/d angeben.
Ausnahme: IVIG, hier bitte 4-wöchentliche Gesamtdosis in g.**

I. Myasthenie-spezifische Medikation

I.1) Pyridostigmin (Angabe des Präparates)

Dosis (mg/d)

 ...

I.2) Immunsuppressive Medikation

Steroid (Angabe des Präparates)

Dosis (mg/d)

 ...

Azathiopron (Angabe des Präparates)

Dosis (mg/d)

 ...

Mycophenolatmofetil (Angabe des Präparates)

Dosis (mg/d)

 ...

Ciclosporintagesdosis (Angabe des Präparates)

Dosis (mg/d)

 ...

Tacrolimustagesdosis (Angabe des Präparates)

Dosis (mg/d)

 ...

IVIGdosis (Angabe des Präparates)

Dosis (g/4weeks)

 ...

II. Sonstige Medikation

 ▼

Sonstige Medikation 1

Dosis (mg/d)

 ...

Sonstige Medikation 2

Dosis (mg/d)

 ...

Sonstige Medikation 3

Dosis (mg/d)

 ...

Sonstige Medikation 4

Dosis (mg/d)

 ...

Sonstige Medikation 5

Dosis (mg/d)

 ...

Weitere 'Sonstige Medikation'

 (bitte hier weitere Medikamente angeben, wenn die obigen Felder nicht ausreichend sind.
Medikament und Tagesdosis in mg/d angeben!)

ProPATient

Patientennummer

Patienteninitialen

Vitalzeichen

Gewicht

Systolischer Blutdruck

Diastolischer Blutdruck

Körpertemperatur

Pulsfrequenz

Atemfrequenz

EKG

- ☐ normal
- ☐ abnormal aber ohne klinische Bedeutung
- ☐ abnormal mit klinischer Bedeutung

Blutentnahme Serum

Die Ergebnisse der Blutentnahme bitte nach Erhalt durch das zuständige Labor auf dem gesonderten eCRF 'BLUTWERTE' erfassen.

Blutentnahme für AChR-AK

 ▼

Datum

Blutentnahme für anti-Influenza Ig

 ▼

Datum

ProPATient

Patientennummer

Patienteninitialen

Besinger score

Untersuchungsdatum

Test**Punkte**

Armvorhalten (90°, stehend)

Beinvorhalten (45°, liegend)

Kopfheben (45°, Rückenlage)

Vitalkapazität (Männer)

Vitalkapazität (Frauen)

Kauen, Schlucken

Doppelbilder
bei Seitwärtsblick

Gesamtpunktzahl (maximal 18 Punkte)

Auswertung und Befundung

ProPATient

Patientennummer

Patienteninitialen

Randomisierung

Die Randomisierung erfolgt verblindet durch das KKS Marburg.
Nachdem das KKS Marburg vom zuständigen Prüfarzt das Randomisierungs-Fax erhalten hat, wird der Patient balanciert einer Therapiegruppe zugeteilt.

Die zuständige Impfschwester erhält ein Fax mit dem Ergebnis der Randomisierung.
Nur die Impfschwester erhält die Information, welche Therapie (Verum oder Placebo) der Patient erhält.

Immunsuppressive Therapie☐ ja☐ nein**Datum der Randomisierung****Impfung/Injektion****Datum der Impfung/Injektion**

Unmittelbare Nebenwirkung (als unmittelbar sind solche Nebenwirkungen definiert, die bis zu einer Stunde nach der Injektion auftreten)

Notfallumschlag

Der Notfallumschlag wurde angelegt und zusammen mit dem Ergebnis der Randomisierung verschlossen in der Patientenakte hinterlegt.

☐ ja☐ nein

Study: PROPATIENT (VERSION: 1) Form: BRUWA004

Page: 1

Printed: 2020/08/21 11:14:28

ProPATient

Patientennummer

Patienteninitialen

1. Acetylcholinrezeptorantikörper (AChR-AK)

Blutentnahme für AChR-AK

 ▼

Datum

Ergebnis (mmol/l)

2. anti-Influenza Ig (nicht für Visite 5)

Blutentnahme für anti-Influenza Ig

 ▼

Datum

Ergebnis

ProPATient

Patientennummer

Patienteninitialen

**Sind Unerwünschte Ereignisse (AE) oder
Komplikationen aufgetreten?**☐ Ja☐ Nein**Bitte füllen Sie für jedes Unerwünschte Ereignis (AE) oder jede Komplikation
ein separates Formular aus.**

Beschreibung des AE

von

(dd mm yyyy)

☐ fortlaufend☐ beendet

bis

(dd mm yyyy)

War das Ereignis schwerwiegend?

Falls 'JA', muss eine Meldung unverzüglich erfolgen.

Bitte füllen Sie das entsprechende Formular aus (Anhang 8.12 zum Prüfplan).Die Meldung an die zuständige Ethikkommission
und die Bundesoberbehörde ist erfolgt.☐ ja☐ nein

Datum der Meldung

ProPATient

Patientennummer

Patienteninitialen

Vorzeitiges Therapieende☐ ja☐ nein

Datum für vorzeitiges Studienende

Datum der letzten Visite

Grund für das vorzeitige Ende

☐ SAE☐ Widerruf der Einverständniserklärung☐ Nicht zur Nachuntersuchung erschienen☐ TodAnderer Grund (255 Zeichen) ☐ Anderer Grund

Datum des Rückzuges der Einverständniserklärung

Sterbedatum

Todesursache (255 Zeichen)

Kommentar zum Therapieende

F) Patienteninformation und Einverständniserklärung

Philipps-Universität Marburg

Fachbereich Medizin**Klinik für Neurologie****Direktor: Prof. Dr. W. H. Oertel**

Hausanschrift: Rudolf-Bultmann-
Straße 8
35039 Marburg

Postanschrift: 35033 Marburg

Telefon: (06421) 28-65193

Telefax: (06421) 28-65164

e-mail: tackenbb@med.uni-
marburg.de

Internet: www.med.uni-
marburg.de/

Aktenzeichen:

Datum:

Bearbeiter:

Patienteninformation und Einverständniserklärung ProPATient

Prospektive, randomisierte, doppelblinde, Plazebo-kontrollierte Studie über Veränderungen des Acetylcholine receptor Antikörper Titers bei der autoimmunen Myasthenia gravis nach einer Influenza Schutzimpfung (ProPATient)

Prüfärzte: Prof. Dr. Norbert Sommer
Dr. Björn Tackenberg
Rudolf-Bultmann-Str. 8
35033 Marburg
Tel.: 06421-2865200
Email: tackenbb@med.uni-marburg.de

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

da Sie die Frage nach einer Gripeschutzimpfung bei Myasthenie gestellt haben, möchten wir Sie hiermit bitten, an einer wissenschaftlichen Studie zur Erforschung des Einflusses einer Gripeschutzimpfung auf die Myasthenia gravis teilzunehmen.

Wissenschaftlicher Hintergrund und Ziel der Studie

Bislang ist es nicht geklärt, ob es einen Einfluss von Impfungen generell und der Gripeschutzimpfung im Besonderen auf den Verlauf einer Myasthenia gravis gibt. Da Sie an einer Myasthenia gravis mit positiven Acetylcholinrezeptorantikörpern erkrankt und im Augenblick klinisch stabil sind, möchten wir Sie bitten, an einer Studie teilzunehmen, die wir zur Beantwortung dieser praktisch wichtigen Frage erarbeitet haben. Wir wollen damit die Frage beantworten, ob eine Myasthenia gravis ein Impfhindernis für die Gripeschutzimpfung ist.

Die ständige Impfkommission des Robert-Koch-Institutes hat empfohlen, alle gesunden Menschen, die älter als 60 Jahre alt sind (und in bestimmten Fällen auch Menschen, die jünger als 60 Jahre alt sind) mit einer Gripeschutzimpfung zu versorgen. In der wissenschaftlichen Literatur gibt es keine Studien und auch keine eindeutigen Empfehlungen der Fachkommissionen, wie im Falle einer Autoimmunkrankheit im Allgemeinen und bei der Myasthenia gravis im Besonderen mit Impfungen zu verfahren ist. Eine Impfung zieht in der Regel eine besonders hohe Aktivität des Immunsystems des geimpften Menschen nach sich, was letztlich zum Schutz vor der Erkrankung führt, gegen die geimpft wird.

In der wissenschaftlichen Medizin herrscht bislang Uneinigkeit darüber, ob eine solche Aktivierung des Immunsystems zu einer Verschlechterung einer vorbestehenden Autoimmunerkrankung, wie es z. B. die Myasthenia gravis ist, führen kann. Darüber hinaus gibt es Berichte, dass Impfungen zum Ausbruch von Autoimmunkrankheiten führen können (z. B. Entzündungen der Arm- und Beinerven mit aufsteigenden Lähmungen (Guillain-Barré-Syndrom), Entzündungen des Rückenmarks und des Gehirns (Enzephalomyelitis), oder Entzündungen der Gefäße (Vaskulitis)).

Wir wollen mit der ProPATient-Studie klären, ob eine Impfung gegen Grippe (Influenza) mit dem Impfstoff Mutagrip der Firma Sanofi Pasteur MDS GmbH zu einer Veränderung des Acetylcholinrezeptorantikörpertiters führt oder nicht.

Aufbau der Studie

Aus methodischen Gründen ist es erforderlich, dass die Studie Placebo-kontrolliert, randomisiert und doppelblind durchgeführt wird. Das heisst: Die Hälfte aller Studienpatienten erhält den echten Gripeschutz-Impfstoff und die andere Hälfte bekommt eine unschädliche und nicht-wirksame Substanz, nämlich Kochsalzlösung, statt des Impfstoffes gespritzt (Placebo). „Randomisiert“ bedeutet, dass Sie sich nicht selbst entscheiden können, ob Sie echten Impfstoff oder Placebo gespritzt bekommen, sondern, dass diese Entscheidung

durch Zufall bestimmt wird. „Doppelblind“ bedeutet zudem, dass weder Sie noch der Sie behandelnde Studienarzt wissen, ob Sie einen echten Impfstoff oder Plazebo gespritzt bekommen haben. Lediglich die Person, die Ihnen den Impfstoff oder das Plazebo spritzt (Impfchwester), ist durch die randomisierende Stelle darüber informiert, welche Behandlung Sie erhalten. Die Impfchwester trägt die Substanz, die Sie gespritzt bekommen auf einen Dokumentationsbogen ein, der in einem gut gekennzeichneten und verschlossenen Briefumschlag in Ihrer Krankenakte abgeheftet wird. Nur wenn medizinische Gründe eintreten, die es erforderlich machen, vor der regulären Beendigung der Studie zu wissen, ob Sie Impfstoff oder Plazebo erhalten haben, darf der Briefumschlag geöffnet werden. Nach Beendigung der Studie wird der Umschlag geöffnet und sein Inhalt in die Krankenakte übertragen. Sollten Sie Plazebo erhalten haben, bieten wir Ihnen eine kostenlose Impfung nach Beendigung der Studie an.

Studiendurchführung

Die Teilnahme an der Studie dauert 12 Wochen. Dabei werden insgesamt 5 Studienbesuche (Visits) durchgeführt.

Der erste Besuch (screening und Visit 1) dauert etwa 2 Stunden. Er hat das Ziel zu klären, ob Sie an der Studie teilnehmen können und ob bei Ihnen Risiken bestehen, die eine Teilnahme an der Studie nicht möglich machen. Der Besuch besteht aus einem ärztlichen Gespräch, einer körperlichen neurologischen und internistischen Untersuchung, einer Blutentnahme zur Bestimmung des Acetylcholinrezeptorantikörpers und der Antikörper gegen Grippeviren. Zusätzlich wird ein EKG (Elektrokardiogramm) zur Messung der Herzströme durchgeführt. Wenn Sie in die Studie eingeschlossen werden können, erfolgt am selben Tage die Impfung mit Mutagrip® oder dem Plazebo. Diese Impfung erfolgt durch eine Injektion in den Muskel (in der Regel in den Deltamuskel am Oberarm).

Der zweite Visit besteht aus einem Anruf bei Ihnen zu Hause 7 Tage nach der Impfung. Dieser Anruf hat zum Ziel, Nebenwirkungen der Impfung, mögliche Veränderungen der Muskelkraft und mögliche Veränderungen in der Medikation abzufragen. Dieser Visit dauert etwa 15 Minuten.

Der dritte Visit dient der Kontrolle, ob die Impfung tatsächlich bei Ihnen angeschlagen hat. Er besteht aus einem ärztlichen Gespräch, einer körperlichen neurologischen und internistischen Untersuchung und einer Blutentnahme zur Bestimmung der Acetylcholinrezeptorantikörper und der in der Zwischenzeit bei Ihnen entstandenen Antikörper gegen den Grippevirus. Dieser Visit dauert etwa 45 Minuten.

Der *vierte Visit* besteht wieder aus einem Anruf bei Ihnen zu Hause 8 Wochen nach der Impfung. Dieser Anruf hat zum Ziel, Nebenwirkungen der Impfung, mögliche Veränderungen der Muskelkraft und mögliche Veränderungen in der Medikation abzufragen. Dieser Visit dauert etwa 15 Minuten.

Der fünfte und gleichzeitig abschließende Besuch im Rahmen der Studie findet in der Klinik statt. Er wird 12 Wochen nach der Impfung durchgeführt und hat zum Ziel, Nebenwirkungen der Impfung, mögliche Veränderungen der Muskelkraft und mögliche Veränderungen in der Medikation zu erfahren. Der Besuch besteht aus einem ärztlichen Gespräch, einer körperlichen neurologischen und internistischen Untersuchung, einer Blutentnahme zur Bestimmung des Acetylcholinrezeptorantikörpers und der Antikörper gegen Grippeviren.

Risiken und Nebenwirkungen

Bei Mutagrip handelt es sich um ein von der Bundesoberbehörde, dem Paul-Ehrlich-Institut in Langen, zugelassenen Impfstoff gegen Influenza (d. h. gegen die echte Grippe). Der Impfstoff wird seit Jahren mit gutem Erfolg und mit guten Verträglichkeitsdaten eingesetzt. Nebenwirkungen folgender Art sind bei dem Gripeschutzimpfstoff bekannt:

Nebenwirkungen in klinischen Studien:

Häufig:

Lokale Reaktionen: Rötungen, Schwellungen, Schmerzen, Ekchymose (kleinflächige Hautblutung) und Verhärtungen

Allgemeine Unverträglichkeitsreaktionen: Fieber, Unwohlsein, Schüttelfrost, Müdigkeit, Kopfschmerzen, Schwitzen, Muskel- und Gelenkschmerzen.

Diese Reaktionen verschwinden gewöhnlich nach 1–2 Tagen ohne Behandlung.

Während der Post-Marketing-Überwachung wurden zusätzlich die folgenden Nebenwirkungen beobachtet:

Gelegentlich:

Allgemeine Hautreaktionen einschließlich Pruritus (Juckreiz), Urtikaria (Nesselsucht) oder nicht näher spezifizierte Hautausschläge.

Selten:

Neuralgien (Nervenschmerzen), Parästhesien (Missempfindungen), Krämpfe, vorübergehende Thrombozytopenie (Verminderung der Anzahl der Blutplättchen).

Allergische Reaktionen, die in seltenen Fällen bis zum Schock führen können, wurden beobachtet.

Sehr selten:

Vaskulitis (Gefäßentzündung) mit vorübergehender Beteiligung der Nieren.

Neurologische Erkrankungen wie Enzephalomyelitis (Entzündung des Gehirns und Rückenmarks), Neuritis (Nervenentzündung) und Guillain-Barré-Syndrom (aufsteigende Lähmung).

(Quelle: Fachinformation Mutagrip, Stand Juni 2005)

Das Plazebo wird ebenfalls in den Muskel gespritzt. Kochsalzlösung an sich hat in der hier vorgesehenen Dosis keine bekannten Nebenwirkungen.

Bitte bedenken Sie, dass Sie keinen Impfschutz gegen Influenza haben werden, wenn Sie per Zufall in die Plazebogruppe gelost werden. Sie können dann erst wieder nach Beendigung der Studie (regulär 3 Monate nach Visit 1 oder wenn Sie die Teilnahme an der Studie zurückziehen) eine Gripeschutzimpfung erhalten.

Neben den durch den Impfstoff bedingten Risiken und Nebenwirkungen können Nebenwirkungen durch die Injektion des Impfstoffes/des Plazebos in den Muskel und durch die Blutentnahmen entstehen:

Injektion von Impfstoff/Plazebo in den Muskel: durch die Desinfektion Hautrötung oder Hautallergie mit Juckreiz und Krustenbildung, Schmerz durch die Injektion, lokale Schwellung, falsche Injektion in Fettgewebe, ein Blutgefäß, einen Nerven, mit der Gefahr des Absterbens von Gewebe (Nekrose), in sehr seltenen Fällen: Entzündung durch Einbringen von Bakterien mit Ausbildung einer Eiterbeule (Spritzenabszess).

Blutentnahme: durch die Desinfektion Hautrötung oder Hautallergie mit Juckreiz und Krustenbildung, Bluterguss („blauer Fleck“), Taubheitsgefühl der Haut, wenn ein kleiner Hautnerv getroffen wird, Schmerz bei Einstich, Entzündung.

Im Notfall können Sie sich an folgende Kontaktperson wenden:

Dienstarzt der Klinik für Neurologie, Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Marburg, Rudolf-Bultmann-Str. 8, 35033 Marburg

Notfalltelefonnummer: 06421-2865200

Versicherungsschutz

Als Teilnehmer an dieser klinischen Studie besteht für Sie ein Versicherungsschutz mit einer maximalen Deckungssumme von 500.000 € pro Teilnehmer, der alle Schäden abdeckt, die durch die an Ihnen durchgeführten Maßnahmen der klinischen Studie verursacht werden können. Die Versicherung wurde bei dem GERLING Vertrieb Deutschland GmbH in Düsseldorf abgeschlossen. Die Nummer der Versicherungspolice lautet 70-5619140-8. Im Falle einer auftretenden Schwangerschaft erstreckt sich der Versicherungsschutz nicht auf etwaige genetische Schädigungen des Kindes. Ausdrücklich wird darauf hingewiesen, dass keine Wege-Unfallversicherung besteht.

Zur Wahrung des Versicherungsschutzes müssen Sie die folgenden Obliegenheiten beachten: Während der Dauer der klinischen Studie dürfen Sie sich einer anderen medizinischen Behandlung nur nach Rücksprache mit Ihrem Prüfarzt bzw. Prüfarztin unterziehen. **Dies gilt nicht in einem medizinischen Notfall.** Ihr Prüfarzt/Prüfarztin ist aber unverzüglich von der Notfallbehandlung zu unterrichten. Eine Gesundheitsschädigung, die infolge einer klinischen Studie eingetreten sein könnte, ist dem o. g. Versicherer unverzüglich anzuzeigen. Sie haben alle zweckmäßigen Maßnahmen zu treffen, die der Aufklärung der Ursache und des Umfangs des eingetretenen Schadens und der Minderung des Schadens dienen.

Datenschutz und Vertraulichkeit

Die im Rahmen dieser Studie erhobenen Informationen (Daten) werden vertraulich behandelt und unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht. Sie werden pseudonymisiert (d. h. verschlüsselt unter Verwendung einer Studiennummer) auf Papier und elektronisch gespeichert und wissenschaftlich ausgewertet. Eine Weitergabe erfolgt nur in anonymisierter Form, d. h. ohne Nennung von Daten, die auf Ihre Identität zurück schließen lassen. Ausgewählten Vertretern des Sponsors (Philipps-Universität), offizieller in- und ausländischer Arzneimittelzulassungs- und Überwachungsbehörden ist es erlaubt, Einsicht in Ihre Daten und medizinische Aufzeichnungen zu nehmen, um zu überprüfen, ob die Studie ordnungsgemäß durchgeführt wurde und ob Ihr vollständiges Einverständnis eingeholt wurde. Es wird weder möglich sein, Sie durch Studiendaten zu identifizieren, die an den Studiensponsor oder an die genehmigenden Behörden gesendet werden, noch durch andere Krankheitsdaten, die aus rechtlichen Gründen erhoben werden mussten. Wenn die Ergebnisse dieser Studie publiziert werden, wird Ihre Identität vertraulich bleiben.

Freiwilligkeit der Teilnahme

Die Teilnahme an dieser wissenschaftlichen Studie ist freiwillig und kann jederzeit von Ihnen ohne Angabe von Gründen zurückgezogen werden. Sollten Sie Ihre Teilnahme im Verlauf der Studie zurückziehen wollen, werden Ihnen daraus keine Nachteile für die weitere Behandlung erwachsen.

Teilnahme an anderen klinischen Studien

Während der Teilnahme an der ProPATlent-Studie können Sie an keiner anderen klinischen Prüfung teilnehmen. Sollte Ihnen in der Zwischenzeit von anderen Prüfärzten eine solche Teilnahme vorgeschlagen werden, unterrichten Sie diese Prüfärzte bitte sofort von Ihrer Teilnahme an der Studie ProPATlent. **Ihr Hausarzt wird mit einem Schreiben über Ihre Teilnahme an der Studie ProPATlent informiert.** Sollten Sie damit nicht einverstanden sein, kreuzen Sie bitte das entsprechende Feld in der Einverständniserklärung an.

Nachimpfung

Für alle Studienteilnehmer, die nach Beendigung der Studie als zur Placebogruppe gehörig identifiziert werden, besteht die Möglichkeit einer Influenzschutzimpfung durch die Prüfärzte nach Beendigung der Studie.

Wir bedanken uns für Ihr Interesse und stehen Ihnen für Rückfragen in einem ausführlichen Gespräch gerne zur Verfügung!

Patienteneinwilligungserklärung für die Studie

Prüfärzte: Prof. Dr. Norbert Sommer
 Dr. Björn Tackenberg
 AG Klinische Neuroimmunologie
 Rudolf-Bultmann-Str. 8, D-35033 Marburg
 Tel.: 06421-2865200

Prospektive, randomisierte, doppelblinde, Plazebo-kontrollierte Studie über Veränderungen des Acetylcholine receptor Antikörper Titer bei der autoimmunen Myasthenia gravis nach einer Influenza Schutzimpfung (ProPATient)

Patientenaufkleber

Ich, _____ wurde von meinem Arzt vollständig über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Prüfung mit dem o.g. Titel aufgeklärt. Ich habe den Aufklärungstext gelesen und verstanden. Ich hatte die Möglichkeit, Fragen zu stellen, und habe die Antworten verstanden und akzeptiere sie. Mein Arzt hat mich über die mit der Teilnahme an der Studie verbundenen Risiken und den möglichen Nutzen informiert.

Ich hatte ausreichend Zeit, mich zur Teilnahme an dieser Studie zu entscheiden und weiß, dass die Teilnahme an dieser klinischen Prüfung freiwillig ist. Ich weiß, dass ich jederzeit und ohne Angaben von Gründen diese Zustimmung widerrufen kann, ohne dass sich dieser Entschluss nachteilig auf die spätere Behandlung durch meinen Arzt auswirken wird.

Ich weiß, dass ich gegen Schäden, die auf das in der Studie eingesetzte Medikament zurückzuführen sind, versichert bin, eine Kopie der Versicherungspolice ist mir ausgehändigt worden.

Ich habe eine Kopie der Patienteninformation und dieser Einwilligungserklärung erhalten. Ich erkläre hiermit meine freiwillige Teilnahme an dieser klinischen Studie.

Ich weiss, dass ich während der gesamten Teilnahme an der Studie ProPATient an keiner anderen klinischen Studie teilnehmen kann.

Mir ist bekannt, dass ich die Teilnahme an der klinischen Studie zu jeder Zeit und ohne Angaben von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir dadurch Nachteile erwachsen.

Mir ist bekannt, dass ich aus methodischen Gründen während der Injektion der Studienmedikation eine Flugzeugschlafmaske über die Augen ziehen muss. Ich erkläre mich damit ausdrücklich einverstanden.

Ich erkläre mich (nicht)** damit einverstanden, dass mein Hausarzt über meine Teilnahme an der Studie ProPATlent schriftlich vom Prüfzentrum informiert wird.

Ich möchte nach Beendigung der Studie über die Möglichkeit einer Nachimpfung gegen Influenza (nicht)** informiert werden.

****ggfs. zu streichen**

Mir ist bekannt, dass bei dieser klinischen Prüfung personenbezogene Daten, insbesondere medizinische Befunde, über mich erhoben, gespeichert und ausgewertet werden sollen. Die Verwendung der Angaben über meine Gesundheit erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor der Teilnahme an der klinischen Prüfung folgende freiwillig abgegebene Einwilligungserklärung voraus, d.h. ohne die nachfolgende Einwilligung kann ich nicht an der klinischen Prüfung teilnehmen.

Einwilligungserklärung zum Datenschutz

1) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser klinischen Prüfung erhobene Daten, insbesondere Angaben über meine Gesundheit, in Papierform und auf elektronischen Datenträgern bei der Arbeitsgruppe Klinische Neuroimmunologie und dem Koordinierungszentrum für Klinische Studien der Philipps-Universität in Marburg aufgezeichnet werden. Soweit erforderlich, dürfen die erhobenen Daten pseudonymisiert (verschlüsselt) weitergegeben werden:

a) an den Sponsor, die Philipps-Universität, oder eine von diesem beauftragte Stelle zum Zwecke der wissenschaftlichen Auswertung.

b) im Falle schwerwiegender, unerwünschter Ereignisse: an den Sponsor, die Philipps-Universität, an die Ethik-Kommission des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität und die zuständige Bundesoberbehörde, das Paul-Ehrlich-Institut, sowie von dieser an die Europäische Datenbank.

2) Außerdem erkläre ich mich damit einverstanden, dass autorisierte und zur Verschwiegenheit verpflichtete Beauftragte des Sponsors (Philipps-Universität) sowie die zuständigen inländischen und ausländischen Überwachungsbehörden in meine beim Prüfarzt vorhandenen personenbezogenen Daten, insbesondere meine Gesundheitsdaten, Einsicht nehmen, soweit dies für die Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der Studie notwendig ist. Für diese Maßnahme entbinde ich den Prüfarzt von der ärztlichen Schweigepflicht.

3) Die Einwilligung zur Erhebung und Verarbeitung meiner personenbezogenen Daten, insbesondere der Angaben über meine Gesundheit, ist unwiderruflich. Ich bin bereits darüber aufgeklärt worden, dass ich jederzeit die Teilnahme an der klinischen Prüfung beenden kann. Im Fall eines solchen Widerrufs meiner Einwilligung, an der Studie teilzunehmen, erkläre ich mich damit einverstanden, dass die bis zu diesem Zeitpunkt gespeicherten Daten ohne Namensnennung weiterhin verwendet werden dürfen, soweit dies erforderlich ist, um

a) Wirkungen des zu prüfenden Arzneimittels festzustellen,

b) sicherzustellen, dass meine schutzwürdigen Interessen nicht beeinträchtigt werden,

4) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Daten nach Beendigung oder Abbruch der Prüfung mindestens zehn Jahre aufbewahrt werden, wie es die Vorschriften über die klinische Prüfung von Arzneimitteln bestimmen. Danach werden meine personenbezoge-

nen Daten gelöscht, soweit nicht gesetzliche, satzungsmäßige oder vertragliche Aufbewahrungsfristen entgegenstehen.

5) Ich bin über folgende gesetzliche Regelung informiert: Falls ich meine Einwilligung, an der Studie teilzunehmen, widerrufe, müssen alle Stellen, die meine personenbezogenen Daten, insbesondere Gesundheitsdaten gespeichert haben, unverzüglich prüfen, inwieweit die gespeicherten Daten für die in Nr. 3 a) bis b) genannten Zwecke noch erforderlich sind. Nicht mehr benötigte Daten sind unverzüglich zu löschen.

Ort und Datum

Unterschrift des Patienten/der Patientin

Ort und Datum

Unterschrift des Prüfarztes/der Prüferin

G) Versicherungspolice

Bedingungen Probandenversicherung

Versicherungsschein-Nr.

Ausstellungstag

70-005619140-8

PB 570:06 - Allgemeine Versicherungsbedingungen für klinische Prüfungen von Arzneimitteln (Probandenversicherung) - GKA PB 570:06 2002.2 -

A. Versicherte Gefahr

1 Gegenstand der Versicherung, Versicherungsfall

Der Versicherer gewährt Versicherungsschutz für den Fall, dass bei einer vom Versicherungsnehmer durchgeführten oder veranlassenden klinischen Prüfung eines Arzneimittels eine Person, bei der die klinische Prüfung durchgeführt wurde (Versicherter), getötet oder ihr Körper oder ihre Gesundheit verletzt wird (Gesundheitsschädigung).

2 Versicherungsumfang

(1) Versicherungsschutz besteht für Gesundheitsschädigungen, die Folge von den bei der klinischen Prüfung angewandten Arzneimitteln und/oder Stoffen sind.

(2) Unter den Versicherungsschutz fallen auch Gesundheitsschädigungen durch Maßnahmen, die an dem Körper des Versicherten im Zusammenhang mit der klinischen Prüfung des Arzneimittels durchgeführt werden.

(3) Soweit unabhängig von der klinischen Prüfung bestehende Krankheiten oder andere Ursachen bei der Gesundheitsschädigung mitgewirkt haben, besteht Versicherungsschutz nur für den entsprechenden ursächlichen Anteil der klinischen Prüfung an der Gesundheitsschädigung.

3 Ausschlüsse

Ausgeschlossen von der Versicherung sind:

(1) Gesundheitsschädigungen eines Versicherten, wenn er an einer Krankheit leidet, zu deren Behebung das zu prüfende Arzneimittel angewendet werden soll, und soweit diese Gesundheitsschädigungen

a) durch mit Sicherheit eintretende und dem Versicherten bekannt gemachte Wirkungen/Ereignisse verursacht worden sind und
b) über ein nach den Erkenntnissen der medizinischen Wissenschaft vertretbares Maß nicht hinausgehen.

(2) Gesundheitsschädigungen und Verschlimmerungen bereits bestehender Gesundheitsschädigungen, die auch dann eingetreten wären oder fortbestünden, wenn der Versicherte nicht an der klinischen Prüfung teilgenommen hätte;

(3) genetische Schädigungen (Veränderung am Erbgut - Genom -, an den Chromosomen, an den Genen oder an einzelnen Nukleotiden). Versicherungsschutz besteht jedoch, soweit die Veränderungen beim Versicherten organische Gesundheitsschädigungen mit Auswirkungen auf das klinische Erscheinungsbild (Phänotyp) zur Folge haben;

(4) Gesundheitsschädigungen, soweit sie eingetreten sind, weil der Versicherte vorsätzlich den ausdrücklichen Anweisungen der Personen, die mit der Durchführung der klinischen Prüfung beauftragt sind, zuwidergehandelt hat.

4 Örtliche und zeitliche Geltung

(1) Die Versicherung umfasst klinische Prüfungen, die innerhalb der Bundesrepublik Deutschland durchgeführt werden.

(2) Vom Versicherungsschutz sind Gesundheitsschädigungen aus solchen klinischen Prüfungen erfasst, die während der Wirksamkeit

des Vertrages begonnen wurden, unabhängig davon, ob der Vertrag vor Eintritt des Versicherungsfalles beendet wird.

(3) Versicherungsschutz besteht für Gesundheitsschädigungen, die spätestens fünf Jahre nach Abschluss der beim Versicherten durchgeführten klinischen Prüfung eingetreten sind und nicht später als zehn Jahre nach Beendigung der klinischen Prüfung dem Versicherer gemeldet worden.

Die Gesundheitsschädigung gilt als in dem Zeitpunkt eingetreten, in dem der Geschädigte erstmals einen Arzt wegen Symptomen konsultiert hat, die sich bei diesem Anlass oder später als Symptome der betreffenden Gesundheitsschädigung erweisen.

5 Beginn der Leistungspflicht, Vorragsdauer

(1) Die Leistungspflicht des Versicherers beginnt, wenn nicht ein späterer Zeitpunkt im Versicherungsschein selbst bestimmt oder ein früherer Zeitpunkt von dem Versicherer schriftlich zugesagt ist, mit der Einlösung des Versicherungsscheins. Wird der erste Beitrag erst nach dem als Beginn der Versicherung festgesetzten Zeitpunkt auf Anforderung ohne Verzug gezahlt, so beginnt der Versicherungsschutz mit dem vereinbarten Zeitpunkt.

(2) Der Vertrag ist zunächst für die in dem Versicherungsschein festgesetzte Zeit abgeschlossen. Beträgt die Dauer des Vertrages mindestens ein Jahr, so kann er schriftlich gekündigt werden. Die Kündigung muss spätestens drei Monate vor dem jeweiligen Ablauf des Vertrages der anderen Partei zugegangen sein. Sie soll durch eingeschriebenen Brief erfolgen. Wird die rechtzeitige Kündigung unterlassen, so verlängert sich der Vertrag jeweils um ein Jahr.

(3) Ein Versicherungsverhältnis, das für eine Dauer von mehr als fünf Jahren eingegangen ist, kann zum Ende des fünften Jahres oder jedes darauf folgenden Jahres unter Einhaltung einer Frist von drei Monaten gekündigt werden.

B. Leistungen des Versicherers

6 Versicherungsleistung, Höchstleistung

I. (1) Der Versicherer leistet den Geldbetrag, der zum Ausgleich des durch die Gesundheitsschädigung eingetretenen materiellen Schadens des Versicherten erforderlich ist.

(2) Schaden ist der Unterschiedsbetrag zwischen der tatsächlichen Vermögenslage des Versicherten und der Vermögenslage, die bestehen würde, wenn die Gesundheitsschädigung nicht eingetreten wäre.

(3) Im Falle der Verletzung des Körpers oder der Gesundheit leistet der Versicherer

a) Heilbehandlungskosten im Rahmen des Angemessenen,
b) eine Geldrente, wenn infolge der Gesundheitsschädigung die Erwerbsfähigkeit des Versicherten aufgehoben oder gemindert wird, oder eine Vermehrung seiner Bedürfnisse eintritt.

Im Einvernehmen von Versicherer und Versichertem kann anstelle einer Rentenleistung eine Kapitalabfindung gewährt werden.

(4) Im Falle des Todes des Versicherten ersetzt der Versicherer demjenigen die Kosten der Beerdigung, welchem die Verpflichtung obliegt, die Kosten zu tragen. Stand der Versicherte zu diesem Zeitpunkt zu einem Dritten in einem Verhältnis, auf Grund dessen er diesem gegenüber kraft Gesetzes unterhaltspflichtig war oder unterhaltspflichtig werden konnte, und ist dem Dritten infolge der Tötung das Recht auf den Unterhalt entzogen, so erbringt der Versicherer Unterhaltsleistungen insoweit, als der Versicherte während der mutmaßlichen Dauer seines Lebens zur Gewährung des Unterhalts verpflichtet gewesen sein würde. Der Versicherer erbringt die Leistungen auch dann, wenn der Dritte zur Zeit des Todes des Versicherten erzeugt, aber noch nicht geboren war.

im Einvernehmen von Versicherer und Versichertem kann anstelle einer Rentenleistung eine Kapitalabfindung gewährt werden.

II. Die Höchstleistung beträgt für alle Versicherungsfälle aus der klinischen Prüfung eines Arzneimittels
Euro 10.000.000,00, wenn bis zu 1.000 Personen,
Euro 20.000.000,00, wenn mehr als 1.000 bis zu 3.000 Personen,
Euro 30.000.000,00, wenn mehr als 3.000 Personen
an der klinischen Prüfung teilnehmen.

Die Versicherungsleistungen für die einzelnen versicherten Personen ermäßigen sich - soweit nicht etwas anderes vereinbart wurde - im entsprechenden Verhältnis, wenn die Summe der einzelnen Versicherungsleistungen diesen Höchstbetrag überschreiten würde.

III. Je versicherte Person bilden Euro 500.000,00 die Höchstgrenze für die Leistungen des Versicherers.

IV. Die Höchstleistung für alle Versicherungsfälle aus den im Versicherungsfall begonnenen klinischen Prüfungen beträgt Euro 50.000.000,00.

7 Nebenleistungen

Der Versicherer übernimmt auch die auf seine Anweisung oder mit seinem Einverständnis erwachsenen notwendigen Kosten einer medizinischen Begutachtung.

8 Erklärung über die Leistungspflicht

(1) Der Versicherer ist verpflichtet, sich innerhalb von zwei Monaten darüber zu erklären, ob und inwieweit eine Entschädigungspflicht anerkannt wird. Die Frist beginnt mit dem Eingang der Unterlagen, die zur Feststellung des Schadens dem Grunde und der Höhe nach beizubringen sind.

(2) Hat der Versicherer die Entschädigungspflicht anerkannt, so ist die Entschädigung binnen zwei Wochen zu leisten.

9 Verfahren bei Meinungsverschiedenheiten

I. (1) Im Falle von Meinungsverschiedenheiten über Art und Umfang der Gesundheitsschädigung oder darüber, ob und in welchem Umfang die Gesundheitsschädigung auf die klinische Prüfung im Sinne der Ziff. 2 zurückzuführen ist, entscheidet ein Ärzteausschuss; für alle sonstigen Streitpunkte sind die ordentlichen Gerichte zuständig.

(2) Die Entscheidung des Ärzteausschusses ist von dem Versicherten bis zum Ablauf von sechs Monaten, nachdem ihm die Erklärung des Versicherers nach Ziff. 8 zugegangen ist, zu beantragen. Versicherer und Versicherter können jedoch bis zum Ablauf dieser Frist verlangen, dass anstelle des Ärzteausschusses die ordentlichen Gerichte entscheiden. Wird dieses Verlangen gestellt, so kann der Versicherte nur Klage erheben.

(3) Lässt der Anspruchserhebende die unter (2) genannte Frist verstreichen, ohne dass er entweder die Entscheidung des Ärzteausschusses verlangt oder Klage erhebt, so sind weitergehende Ansprüche, als sie vom Versicherer anerkannt sind, ausgeschlossen. Auf diese Rechtsfolge hat der Versicherer in seiner Erklärung hinzuweisen.

II. Für den Ärzteausschuss gelten folgende Bestimmungen:

(1) Zusammensetzung:

- a) Der Ärzteausschuss setzt sich zusammen aus zwei Ärzten, von denen jede Partei einen benennt, und einem Obmann. Dieser wird von den beiden von den Parteien benannten Ärzten gewählt und muss ein auf dem medizinischen Fachgebiet, in das die klinische Prüfung fällt, erfahrener Arzt sein, der nicht in einem Abhängigkeitsverhältnis zu einer der Parteien steht. Einigen sich die von den Parteien gewählten Ärzte nicht binnen eines Monats über den Obmann, so wird dieser auf Antrag einer Partei von dem Vorsitzenden der für den letzten inländischen Wohnsitz des Versicherten zuständigen Ärztekammer benannt. Hat der Versicherte keinen inländischen Wohnsitz, so ist die für den Sitz des Versicherers zuständige Ärztekammer maßgebend. Der Obmann kann einen auf dem betroffenen Fachgebiet besonders erfahrenen medizinischen oder pharmakologischen Sachverständigen als Gutachter zuziehen.
- b) Benennt eine Partei ihr Ausschussmitglied nicht binnen eines Monats, nachdem sie von der anderen Partei hierzu aufgefordert

ist, so wird dieses Ausschussmitglied gleichfalls durch den Vorsitzenden der Ärztekammer ernannt.

(2) Verfahren:

- a) Sobald der Ausschuss zusammengesetzt ist, hat der Versicherer unter Einsendung der erforderlichen Unterlagen den Obmann um die Durchführung des Verfahrens zu ersuchen.
- b) Der Obmann bestimmt im Benehmen mit den beiden Ausschussmitgliedern Ort und Zeit des Zusammentritts und gibt hiervon den Parteien mindestens eine Woche vor dem Termin Nachricht. Es bleibt ihm unbenommen, sich wegen weiterer Aufklärung des Sachverhalts an die Parteien zu wenden.

Im Rahmen der Sitzung ist der Versicherte, soweit möglich, zu hören und erforderlichenfalls zu untersuchen. Erscheint der Versicherte unentschuldigt nicht, so kann der Ausschuss auf Grund der Unterlagen entscheiden.

c) Die Entscheidung ist schriftlich zu begründen und vom Obmann zu unterzeichnen.

(3) Kosten:

Ist die Entscheidung des Ärzteausschusses für den Versicherten günstiger als es dem vor seinem Zusammentritt abgegebenen Angebot des Versicherers entspricht, so sind die Kosten voll von diesem zu tragen. Andernfalls werden sie bis zu 10 % der geforderten Entschädigung, höchstens bis zu Euro 5.000,00, dem Versicherten auferlegt.

C. Pflichten des Versicherungsnehmers

10 Vorvertragliche Anzeigepflichten des Versicherungsnehmers

I. (1) Der Versicherungsnehmer hat bei der Schließung des Vertrages alle ihm bekannten Umstände, die für die Übernahme der Gefahr erheblich sind, dem Versicherer anzuzeigen. Erheblich sind die Gefahrumstände, die geeignet sind, auf den Abschluss des Versicherers den Vertrag überhaupt oder zu dem vereinbarten Inhalt abzuschießen, einen Einfluss auszuüben. Ein Umstand, nach welchem der Versicherer ausdrücklich und schriftlich gefragt hat, gilt im Zweifel als erheblich.

(2) Ist die Anzeige eines erheblichen Umstandes unterblieben, so kann der Versicherer von dem Vertrag zurücktreten. Das Gleiche gilt, wenn die Anzeige eines erheblichen Umstandes deshalb unterblieben ist, weil sich der Versicherungsnehmer der Kenntnis des Umstandes arglistig entzogen hat.

(3) Der Rücktritt ist ausgeschlossen, wenn der Versicherer den nicht angezeigten Umstand kannte oder wenn die Anzeige ohne Verschulden des Versicherungsnehmers unterblieben ist.

II. (1) Der Versicherer kann von dem Vertrag auch dann zurücktreten, wenn über einen erheblichen Umstand eine unrichtige Anzeige gemacht worden ist.

(2) Der Rücktritt ist ausgeschlossen, wenn die Unrichtigkeit dem Versicherer bekannt war oder die Anzeige ohne Verschulden des Versicherungsnehmers unrichtig gemacht worden ist.

III. Hatte der Versicherungsnehmer die Gefahrumstände anhand schriftlicher, von dem Versicherer gestellter Fragen anzuzeigen, kann der Versicherer wegen unterbliebener Anzeige eines Umstandes, nach welchem nicht ausdrücklich gefragt worden ist, nur im Fall arglistiger Verschweigung zurücktreten.

IV. Wird der Vertrag von einem Bevollmächtigten oder von einem Vertreter ohne Vertretungsmacht geschlossen, so kommt für das Rücktrittsrecht des Versicherers nicht nur die Kenntnis und die Arglist des Vertreters, sondern auch die Kenntnis und die Arglist des Versicherungsnehmers in Betracht. Der Versicherungsnehmer kann sich darauf, dass die Anzeige eines erheblichen Umstandes ohne Verschulden unterblieben oder unrichtig gemacht ist, nur berufen, wenn weder dem Vertreter noch ihm selbst ein Verschulden zur Last fällt.

V. (1) Der Rücktritt kann nur innerhalb eines Monats erfolgen. Die Frist beginnt mit dem Zeitpunkt, in welchem der Versicherer von der Verletzung der Anzeigepflicht Kenntnis erlangt.

(2) Der Rücktritt erfolgt durch Erklärung gegenüber dem Versicherungsnehmer. Im Fall des Rücktritts sind, soweit das Versicherungsvertragsgesetz nicht in Ansehung der Prämie ein anderes bestimmt, beide Teile verpflichtet, einander die

Bedingungen Probandenversicherung

Versicherungsschein-Nr.
70-005619140-8

Ausstellungstag

empfangenen Leistungen zurückzugewähren; eine Geldsumme ist von dem Zeitpunkt des Empfangs an zu verzinsen.

VI. Tritt der Versicherer zurück, nachdem der Versicherungsfall eingetreten ist, so bleibt die Verpflichtung zur Leistung gleichwohl bestehen, wenn der Umstand, in Ansehung dessen die Anzeigepflicht verletzt ist, keinen Einfluss auf den Eintritt des Versicherungsfalles und auf den Umfang der Leistung des Versicherers gehabt hat.

VII. Das Recht des Versicherers, den Vertrag wegen arglistiger Täuschung über Gefahrumstände anzufechten, bleibt unberührt.

11 Gefahrerhöhung

Der Versicherungsnehmer ist verpflichtet, dem Versicherer unverzüglich alle nach Vertragsschluss eintretenden, die übernommene Gefahr erhöhenden Umstände mitzuteilen. Dies gilt sowohl für vom Versicherungsnehmer als auch von Dritten mit Duldung des Versicherungsnehmers verursachte Gefahrerhöhungen.

Die Anzeigepflicht besteht auch für Gefahrerhöhungen, die nach Antragstellung und vor Annahme des Antrages eintreten. Unrichtige Angaben zu den Gefahrumständen oder das arglistige Verschweigen sonstiger Gefahrumstände können den Versicherer berechtigen, den Versicherungsschutz zu versagen.

12 Prämienzahlung

I. (1) Die erste oder einmalige Prämie wird, wenn nichts anderes bestimmt ist, sofort nach Abschluss des Versicherungsvertrages fällig. Zu der Prämie gehören auch die aus dem Versicherungsschein oder der Prämienrechnung ersichtlichen Kosten (Ausfertigungsgebühr und etwaige öffentliche Abgaben (Versicherungssteuer)).

(2) Wird die erste oder einmalige Prämie nicht rechtzeitig gezahlt, so ist der Versicherer, solange die Zahlung nicht bewirkt ist, berechtigt, vom Vertrag zurückzutreten. Es gilt als Rücktritt, wenn der Anspruch auf die Prämie nicht innerhalb von drei Monaten vom Fälligkeitstag an gerichtlich geltend gemacht wird.

(3) Ist die Prämie zur Zeit des Eintritts des Versicherungsfalles noch nicht gezahlt, so ist der Versicherer von der Verpflichtung zur Leistung frei. Wird die erste Prämie erst nach dem als Beginn der Versicherung festgesetzten Zeitpunkt eingefordert, alsdann aber ohne Verzug gezahlt, so beginnt der Versicherungsschutz mit dem vereinbarten Zeitpunkt.

II. (1) Die nach Beginn des Versicherungsschutzes zahlbaren regelmäßigen Folgeprämien sind, soweit nichts anderes vereinbart wurde, am Monatsanfang des jeweiligen Prämienzeitraumes, sonstige Prämien bei Bekanntgabe an den Versicherungsnehmer einschließlich etwaiger öffentlicher Abgaben (Versicherungssteuer) und einer Hausgebühr zu entrichten.

(2) Unterbleibt die Zahlung, so ist der Versicherungsnehmer auf seine Kosten unter Hinweis auf die Folgen fortwährenden Verzugs schriftlich zur Zahlung innerhalb einer Frist von zwei Wochen aufzufordern.

(3) Ist der Versicherungsnehmer nach Ablauf dieser Frist mit der Zahlung der Prämie oder der Kosten im Verzug, gilt folgendes:

Bei Versicherungsfällen, die nach Ablauf dieser Frist eintreten, ist der Versicherer von der Verpflichtung zur Leistung frei, wenn der Versicherungsnehmer in der Fristbestimmung auf diese Rechtsfolge hingewiesen wurde.

Der Versicherer ist berechtigt, das Vertragsverhältnis ohne Einhaltung einer Kündigungsfrist zu kündigen. Die Kündigung kann bereits bei der Bestimmung der Zahlungsfrist ausgesprochen werden. In diesem Fall wird die Kündigung zum Fristablauf wirksam, wenn in dem Kündigungsschreiben darauf hingewiesen wurde. Die Wirkungen der Kündigung fallen fort, wenn der Versicherungsnehmer innerhalb eines Monats nach der Kündigung oder, falls die Kündigung mit der Fristbestimmung verbunden worden ist, innerhalb eines Monats nach

dem Ablauf der Zahlungsfrist die Zahlung nachholt, sofern nicht der Versicherungsfall bereits eingetreten ist.

Kündigt der Versicherer nicht, ist er für die gerichtliche Geltendmachung der rückständigen Prämien nebst Kosten an eine Ausschlussfrist von sechs Monaten seit Ablauf der zweiwöchigen Frist gebunden.

(4) Bei Teilzahlung der Jahresprämie werden die noch ausstehenden Raten der Jahresprämie sofort fällig, wenn der Versicherungsnehmer mit der Zahlung einer Rate in Verzug gerät.

13 Ergänzende Bestimmungen zur Prämienberechnung

(1) Der Versicherungsnehmer meldet dem Versicherer zum Zweck der vorläufigen Prämienberechnung vor Beginn eines jeden Versicherungsjahres, welche klinischen Prüfungen im Laufe des Versicherungsjahres voraussichtlich von ihm durchgeführt oder veranlasst werden, und nach Ablauf eines Versicherungsjahres, welche klinischen Prüfungen darüber hinaus noch begonnen wurden. Mit diesen Meldungen teilt der Versicherungsnehmer auch die voraussichtliche Zahl der von den Prüfungen betroffenen Personen (Versicherte) mit.

(2) Innerhalb eines Monats nach Ablauf eines Versicherungsjahres teilt der Versicherungsnehmer dem Versicherer zur Berechnung der endgültigen Prämie mit:

- a) welche klinischen Prüfungen welcher Arzneimittel im abgelaufenen Versicherungsjahr beendet wurden,
- b) in welchem Versicherungsjahr diese klinischen Prüfungen jeweils begonnen haben und,
- c) wie viele Personen (Versicherte) an diesen Prüfungen teilgenommen haben.

(3) Der Versicherungsnehmer ist verpflichtet, dafür zu sorgen, dass geordnete Aufzeichnungen über die Versicherten geführt werden.

Die Aufzeichnungen müssen insbesondere so geführt werden, dass bei Eintritt einer versicherten Gesundheitsschädigung ein Zweifel über die Zugehörigkeit einzelner Personen zum versicherten Personenkreis nicht entstehen kann und dass der Ablauf und die Ergebnisse der klinischen Prüfung im Einzelfall rekonstruierbar sind.

14 Obliegenheiten

I. des Versicherungsnehmers

(1) Soweit der Versicherungsnehmer die klinische Prüfung selbst durchführt, ist er verpflichtet,

- a) die Vorschriften der §§ 40 und 41 des Arzneimittelgesetzes (AMG) einzuhalten und die Arzneimittelprüfrichtlinien (§ 26 AMG) in ihrer jeweils gültigen Fassung zu beachten;
- b) die Versicherten über das Bestehen des Vertrages und die Obliegenheiten gemäß Abs. II (1) und (2) zu unterrichten, soweit nicht § 41 Ziff. 7 AMG eingreift.

(2) Soweit der Versicherungsnehmer die klinische Prüfung durch von ihm beauftragte Dritte durchführen lässt, hat er diese zur Wahrung der Pflichten gemäß Ziff. (1) anzuhalten.

(3) Im Schadenfall ist der Versicherungsnehmer im Rahmen seiner Möglichkeiten verpflichtet, den Versicherer bei der Aufklärung des Sachverhaltes und der Minderung des Schadens zu unterstützen.

II. des Versicherten

(1) Während der Dauer der klinischen Prüfung darf sich die versicherte Person einer anderen medizinischen Behandlung nur nach Rücksprache mit dem klinischen Prüfer unterziehen. Dies gilt nicht in einem medizinischen Notfall; der klinische Prüfer ist von einer Notfallbehandlung unverzüglich zu unterrichten.

(2) Eine Gesundheitsschädigung, die als Folge der klinischen Prüfung eingetreten sein könnte, ist dem Versicherer unverzüglich anzuzeigen.

(3) Der Versicherte hat alle zweckmäßigen Maßnahmen zu treffen, die der Aufklärung der Ursache und des Umfangs des eingetretenen Schadens und der Minderung dieses Schadens dienen.

(4) Auf Verlangen des Versicherers ist der behandelnde Arzt - als solcher gilt auch ein Konsiliararzt oder ein gutachterlich tätiger Arzt - zu veranlassen, einen Bericht über die Gesundheitsschädigung und, nach Abschluss der ärztlichen Behandlung, einen Schlussbericht zu erstatten; außerdem ist dafür Sorge zu tragen, dass alle etwa weiter noch von dem Versicherer geforderten Berichte des behandelnden Arztes geliefert werden. Alternativ kann der Versicherte den behandelnden Arzt von der ärztlichen Schweigepflicht entbinden, damit der Versicherer die vorab genannten Berichte direkt beim Arzt anfordern kann.

(5) Die behandelnden Ärzte, auch diejenigen, von denen der Versicherte aus anderen Anlässen behandelt oder untersucht worden ist, und die Sozialversicherungsträger sowie andere Versicherer, wenn dort die Gesundheitsschädigung gemeldet ist, sind zu ermächtigen, dem Versicherer auf Verlangen Auskunft zu erteilen.

(6) Hat der Versicherungsfall den Tod zur Folge, so ist dies unverzüglich anzuzeigen (Ziff. 17), und zwar auch dann, wenn eine Meldung nach Abs. (2) bereits erfolgt ist. Dem Versicherer ist das Recht zu verschaffen, eine Obduktion durch einen von ihm beauftragten Arzt vornehmen zu lassen.

15 Rechtsverhältnis Dritter

(1) Die Ausübung der Rechte aus dem Versicherungsvertrag steht dem Versicherungsnehmer zu. Den Anspruch auf die Versicherungsleistung kann auch der Versicherte unmittelbar geltend machen.

(2) Alle für den Versicherungsnehmer bzw. Versicherten geltenden Vorschriften finden auf dessen Rechtsnachfolger Anwendung.

(3) Die Versicherungsansprüche können vor ihrer endgültigen Feststellung ohne ausdrückliche Zustimmung des Versicherers weder übertragen noch verpfändet werden.

16 Folgen von Obliegenheitsverletzungen

I. des Versicherungsnehmers

(1) Verletzen der Versicherungsnehmer oder dessen mit der Leitung der klinischen Prüfung verantwortliche Beauftragte (soweit sie betriebsangehörig sind) vorsätzlich eine Obliegenheit, die nach dem Eintritt des Versicherungsfalles zu erfüllen ist, so kann der Versicherer beim Versicherungsnehmer Rückgriff nehmen. Das Recht zum Rückgriff besteht nicht, wenn die Verletzung weder Einfluss auf den Eintritt oder die Feststellung des Versicherungsfalles noch auf die Feststellung oder den Umfang der dem Versicherer obliegenden Leistung gehabt hat. Unter denselben Voraussetzungen besteht ein Recht zum Rückgriff, wenn eine Obliegenheit verletzt ist, die vor dem Eintritt des Versicherungsfalles zu erfüllen war, und der Vertrag nach Abs. (2) gekündigt wurde.

(2) Verletzen der Versicherungsnehmer oder dessen mit der Leitung der klinischen Prüfung verantwortliche Beauftragte (soweit sie betriebsangehörig sind) eine Obliegenheit, die vor dem Eintritt des Versicherungsfalles dem Versicherer gegenüber zu erfüllen ist, so kann der Versicherer innerhalb eines Monats, nachdem er von der Verletzung Kenntnis erlangt hat, ohne Einhaltung einer Kündigungsfrist kündigen, es sei denn, dass die Verletzung als eine unvermeidbare anzusehen ist.

II. des Versicherten

Verletzt der Versicherte vorsätzlich oder grobfahrlässig eine Obliegenheit, die nach dem Eintritt des Versicherungsfalles zu erfüllen ist, so ist der Versicherer von der Verpflichtung zur Leistung frei. Bei grobfahrlässiger Verletzung bleibt der Versicherer zur Leistung insoweit verpflichtet, als die Verletzung Einfluss weder auf die Feststellung des Versicherungsfalles noch auf die Feststellung oder den Umfang der dem Versicherer obliegenden Leistung gehabt hat.

D. Sonstige Bestimmungen

17 Anzeigen und Willenserklärungen

(1) Alle für den Versicherer bestimmten Anzeigen und Erklärungen sind schriftlich abzugeben und sollen an die Hauptverwaltung des Versicherers oder an die im Versicherungsschein oder in dessen Nachträgen als zuständig

bezeichnete Stelle gerichtet werden. Die Vertreter sind zu deren Entgegennahme nicht bevollmächtigt.

(2) Hat der Versicherungsnehmer seine Anschrift geändert, die Änderung aber dem Versicherer nicht mitgeteilt, so genügt für eine Willenserklärung, die dem Versicherungsnehmer gegenüber abzugeben ist, die Absendung eines eingeschriebenen Briefes nach der letzten dem Versicherer bekannten Anschrift. Die Erklärung wird in dem Zeitpunkt wirksam, in welchem sie ohne die Anschriftenänderung bei regelmäßiger Beförderung dem Versicherungsnehmer zugegangen sein würde.

18 Widerspruchsrecht des Versicherungsnehmers

Werden die für den Vertrag geltenden Versicherungsbedingungen oder die weitere für den Vertragsinhalt maßgebliche Verbraucherinformation erst zusammen mit dem Versicherungsschein übersandt, hat der Versicherungsnehmer ein gesetzliches Widerspruchsrecht, über das er belehrt werden muss.

Fehlt diese Belehrung oder liegen dem Versicherungsnehmer der Versicherungsschein, die Versicherungsbedingungen oder die Verbraucherinformation nicht vollständig vor, kann dieser noch innerhalb eines Jahres nach Zahlung der ersten Prämie widersprechen.

19 Gerichtsstände

(1) Für Klagen, die aus dem Versicherungsvertrag gegen den Versicherer erhoben werden, bestimmt sich die gerichtliche Zuständigkeit nach dem Sitz des Versicherers oder seiner für den Versicherungsvertrag zuständigen Niederlassung. Hat ein Versicherungsagent am Zustandekommen des Vertrages mitgewirkt, ist auch das Gericht des Ortes zuständig, an dem der Versicherungsagent zur Zeit der Vermittlung oder des Abschlusses seine gewerbliche Niederlassung oder - bei Fehlen einer gewerblichen Niederlassung - seinen Wohnsitz hatte.

(2) Klagen des Versicherers gegen den Versicherungsnehmer können bei dem für den Wohnsitz des Versicherungsnehmers zuständigen Gericht erhoben werden. Soweit es sich bei dem Vertrag um eine betriebliche Versicherung handelt, kann der Versicherer seine Ansprüche auch bei dem für den Sitz oder die Niederlassung des Versicherungsnehmers zuständigen Gericht geltend machen.

20 Verjährung, Klagefrist

(1) Die Ansprüche aus diesem Versicherungsvertrag verjähren in zwei Jahren. Die Verjährung beginnt mit dem Schluss des Jahres, in welchem die Leistung verlangt werden kann.

Ist ein Anspruch des Versicherungsnehmers bei dem Versicherer angemeldet worden, so ist die Verjährung bis zum Eingang der schriftlichen Entscheidung des Versicherers gehemmt.

(2) Hat der Versicherer den Versicherungsanspruch abgelehnt, so ist der bestrittene Versicherungsanspruch bei Meldung des Verlustes durch Erhebung der Klage binnen einer Frist von sechs Monaten geltend zu machen. Die Frist beginnt mit dem Tage, an dem der Anspruchsberechtigte durch eingeschriebenen Brief unter Hinweis auf die Rechtsfolgen der Fristveräumung davon in Kenntnis gesetzt worden ist, inwieweit sein Anspruch auf Versicherungsschutz bestanden wird.

Erläuterungen zu den Allgemeinen Versicherungsbedingungen für klinische Prüfungen von Arzneimitteln (Probandenversicherung Arzneimitteln)

Zu Ziff. 1:

Als versicherte Person gilt auch die bei der Durchführung der klinischen Prüfung bereits gezeugte Leibesfrucht der Versicherten.

Probandenversicherung

Versicherungsschein-Nr.

Ausstellungstag

70-005619140-8

Zu Ziff. 6 1.:

Bedingungsgemäß ersetzt der Versicherer den konkret eingetretenen materiellen Schaden des Versicherten. Der Umfang des Schadens ist so beschrieben, dass der Versicherte dasjenige ersetzt bekommt, was er auf der Grundlage des § 249 BGB bekäme, wenn ein Schädiger ihm gegenüber haftpflichtig wäre.

Wird infolge der Gesundheitsschädigung die Erwerbsfähigkeit des Versicherten aufgehoben oder gemindert oder kommt es zu einer Vermehrung seiner Bedürfnisse, ist eine Geldrente entsprechend § 843 BGB zu gewähren.

Da der Umfang des Schadens durch Vergleich der Vermögenslagen vor und nach Eintritt der Gesundheitsschädigung ermittelt werden soll, tritt insoweit kein Schaden ein, als dem Versicherten oder seinen Hinterbliebenen ein Anspruch auf Leistung aus einer Sozialversicherung, gegen einen Krankenversicherer oder ein gesetzlicher Anspruch auf Lohn- und Gehaltsfortzahlung, auf Fortzahlung von Dienst- oder Amtsbezügen oder auf Gewährung von Versorgungsbezügen zusteht. Bei Streit über die Entstehung solcher Ansprüche wird der Versicherer gegen Abtretung der strittigen Ansprüche die Leistungen vorab gewähren.

Eine Ersatzpflicht besteht nach Ziff. 2 nur für solche Schäden, die durch die klinische Prüfung verursacht sind.

Nicht ersatzpflichtig sind dabei Schäden, die lediglich im Anschluss an die klinische Prüfung infolge psychogener Störungen des Versicherten auftreten, ohne dass die klinische Prüfung eine objektive Ursache hierfür gesetzt hat.

Verzeichnis meiner akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrerinnen und Lehrer waren die Damen und Herren:

In Marburg: Arnold, Barth, Basler, Bartsch, Bauer, Baum, Becker, Bien, Burchert, Cetin, Christiansen, Czubayko, Daut, Dodel, Eilers, Feuser, Fuchs-Winkelmann, Gerdes, Görg, Gudermann, Gress, Hamer, Hertl, Höffken, Hofmann, Hoyer, Jungclas, Kann, Klose, Klenk, Köhler, Koolman, Krause, Kretschmer, Krieg, Kroll, Lang, Lill, Löffler, Lohoff, Maier, Maisch, Mandrek, Moll, Moeller, Moosdorf, Mueller, Mutters, Neubauer, Oertel, Pagenstecher, Remschmidt, Renz, Richter, Rothmund, Schäfer, Schmidt, Seitz, Sommer, Steiniger, Tackenberg, Vogelmeier, Wagner, Weihe, Werner, Wulf.

In Berlin: Bauknecht, Kienapfel, Mackert.

In Toronto: Delgado, Kandel, Kim, Marcon, May, Ottaway, Ross.

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt an dieser Stelle allen Personen, die zu der Durchführung der ProPATient-Studie beigetragen und mich bei der Erstellung der Dissertation unterstützt haben:

Meinem ehemaligen Betreuer und jetzigen Doktorvater Herrn PD Dr. Björn Tackenberg gilt mein ganz besonderer Dank. Neben der eigentlichen Idee und Konzeption von ProPATient danke ich ihm für das Überlassen des Themas und die stets hervorragende und freundschaftliche Betreuung während der Studie und der Verschriftlichung. Er hat mein Interesse an der klinisch-experimentellen Wissenschaft maßgeblich geweckt und gezeigt, dass sich verantwortungsvolles ärztliches Handeln mit wissenschaftlichem Arbeiten sinnvoll vereinen lässt.

Bei Herrn Prof. Dr. Wolfgang H. Oertel, Direktor der Klinik für Neurologie, bedanke ich mich für die Ermöglichung von ProPATient und die Bereitstellung der Arbeitsmittel in der Klinik für Neurologie.

Auch bei den Mitgliedern der AG Neuroimmunologie möchte ich mich bedanken. Dies gilt insbesondere für die „Impfchwester“ Frau Simone Brozat. Frau Babette von Hagen danke ich für die Hilfestellung bei zahlreichen organisatorischen Problemen.

An dieser Stelle möchte ich allen Teilnehmern der ProPATient-Studie für ihr Engagement danken.

Meinen Freunden und Kommilitonen danke ich für die wunderbare Studienzeit in Marburg. Dem AS Pirin danke ich für die Titel und Erfolge in der Bunten Liga!

Ich danke Lena für die beständige Motivation und die Geduld mit mir, meinen Flüchen und MS Word.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern, Großeltern und meinen Schwestern. Nur durch die stetige Unterstützung und ihr bedingungsloses Vertrauen wurden mein Studium und die Dissertation erst ermöglicht.